

**Untersuchungen über die
Denaturierung von Muskeleiweißkörpern
bei der Fleischzerkleinerung**

Adolf Strobl

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Komm. Vorstand: Prof. Dr. H. S e d l m e i e r

Untersuchungen über die Denaturierung von
Muskeleiweißkörpern bei der Fleischzerkleinerung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Adolf Strobl

München 1957



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. H. L i e b m a n n

Referent: Professor Dr. H. S e d l m e i e r

Tag der Promotion: 24. Juli 1957

Inhaltsverzeichnis

1. Vorwort	5
2. Die Entstehung der Kunst	7
3. Die Kunst der Griechen	15
4. Die Kunst der Römer	25
5. Die Kunst der Byzantiner	35
6. Die Kunst der Goten	45
7. Die Kunst der Franken	55
8. Die Kunst der Karolinger	65
9. Die Kunst der Ottonen	75
10. Die Kunst der Salier	85
11. Die Kunst der Staufer	95
12. Die Kunst der Habsburger	105
13. Die Kunst der Luxemburger	115
14. Die Kunst der Wittelsbacher	125
15. Die Kunst der Habsburger	135
16. Die Kunst der Habsburger	145
17. Die Kunst der Habsburger	155
18. Die Kunst der Habsburger	165
19. Die Kunst der Habsburger	175
20. Die Kunst der Habsburger	185
21. Die Kunst der Habsburger	195
22. Die Kunst der Habsburger	205
23. Die Kunst der Habsburger	215
24. Die Kunst der Habsburger	225
25. Die Kunst der Habsburger	235
26. Die Kunst der Habsburger	245
27. Die Kunst der Habsburger	255
28. Die Kunst der Habsburger	265
29. Die Kunst der Habsburger	275
30. Die Kunst der Habsburger	285
31. Die Kunst der Habsburger	295
32. Die Kunst der Habsburger	305
33. Die Kunst der Habsburger	315
34. Die Kunst der Habsburger	325
35. Die Kunst der Habsburger	335
36. Die Kunst der Habsburger	345
37. Die Kunst der Habsburger	355
38. Die Kunst der Habsburger	365
39. Die Kunst der Habsburger	375
40. Die Kunst der Habsburger	385
41. Die Kunst der Habsburger	395
42. Die Kunst der Habsburger	405
43. Die Kunst der Habsburger	415
44. Die Kunst der Habsburger	425
45. Die Kunst der Habsburger	435
46. Die Kunst der Habsburger	445
47. Die Kunst der Habsburger	455
48. Die Kunst der Habsburger	465
49. Die Kunst der Habsburger	475
50. Die Kunst der Habsburger	485
51. Die Kunst der Habsburger	495
52. Die Kunst der Habsburger	505
53. Die Kunst der Habsburger	515
54. Die Kunst der Habsburger	525
55. Die Kunst der Habsburger	535
56. Die Kunst der Habsburger	545
57. Die Kunst der Habsburger	555
58. Die Kunst der Habsburger	565
59. Die Kunst der Habsburger	575
60. Die Kunst der Habsburger	585
61. Die Kunst der Habsburger	595
62. Die Kunst der Habsburger	605
63. Die Kunst der Habsburger	615
64. Die Kunst der Habsburger	625
65. Die Kunst der Habsburger	635
66. Die Kunst der Habsburger	645
67. Die Kunst der Habsburger	655
68. Die Kunst der Habsburger	665
69. Die Kunst der Habsburger	675
70. Die Kunst der Habsburger	685
71. Die Kunst der Habsburger	695
72. Die Kunst der Habsburger	705
73. Die Kunst der Habsburger	715
74. Die Kunst der Habsburger	725
75. Die Kunst der Habsburger	735
76. Die Kunst der Habsburger	745
77. Die Kunst der Habsburger	755
78. Die Kunst der Habsburger	765
79. Die Kunst der Habsburger	775
80. Die Kunst der Habsburger	785
81. Die Kunst der Habsburger	795
82. Die Kunst der Habsburger	805
83. Die Kunst der Habsburger	815
84. Die Kunst der Habsburger	825
85. Die Kunst der Habsburger	835
86. Die Kunst der Habsburger	845
87. Die Kunst der Habsburger	855
88. Die Kunst der Habsburger	865
89. Die Kunst der Habsburger	875
90. Die Kunst der Habsburger	885
91. Die Kunst der Habsburger	895
92. Die Kunst der Habsburger	905
93. Die Kunst der Habsburger	915
94. Die Kunst der Habsburger	925
95. Die Kunst der Habsburger	935
96. Die Kunst der Habsburger	945
97. Die Kunst der Habsburger	955
98. Die Kunst der Habsburger	965
99. Die Kunst der Habsburger	975
100. Die Kunst der Habsburger	985

Meiner lieben Mutter

Inhaltsverzeichnis

	Seite:
I. Einleitung	1
II. Besprechung der Literatur	2
A. Aufbau und Gestalt der Proteine	2
B. Denaturierung der Proteine	4
1. Denaturierende Einflüsse auf Eiweißkörper und die dadurch bedingte Veränderung der Protein- eigenschaften	4
2. Theorien der Denaturierung	4
3. Renaturierung	13
4. Denaturierung von Muskeleiweißkörpern	14
5. Denaturierung bei der Zerkleinerung von Fleisch	19
III. Eigene Untersuchungen	25
A. Vorbetrachtung	25
B. Material und Methodik	25
C. Vorversuche	26
D. Hauptversuche	27
IV. Diskussion	36
V. Zusammenfassung	39
VI. Literaturverzeichnis	40
Lebenslauf	46



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung

Auf dem Gebiet der Fleischzerkleinerung wurden in den letzten Jahren erhebliche Fortschritte erzielt. Insbesondere konnten Verarbeitungskapazität der Maschinen und die erzielbaren Zerkleinerungsgrade erheblich gesteigert werden. Inwieweit hierbei im Einzelfall mit Denaturierungsvorgängen zu rechnen ist, wurde relativ wenig und nur unter handwerksmässigen Bedingungen geprüft. Zur Stabilisierung des Arbeitsganges ist aber die Wärmeentwicklung bei der Fleischzerkleinerung weitgehend auszuschalten, um ein "Verbrennen" oder "Kurzwerden" des Brätes zu verhüten, also die Bindung zu begünstigen.

Im Rahmen von Untersuchungen über das Verhalten des Fleisches bei der Verarbeitung wurde mir die Aufgabe übertragen, die Denaturierung von Muskel-eiweiß bei der Fleischzerkleinerung zu studieren.

II. Besprechung der Literatur

A) Aufbau und Gestalt der Proteine.

Die Proteine sind aus Aminosäuren aufgebaut, die durch die Aminogruppe der einen mit der Carboxylgruppe der anderen miteinander verbunden sind und so aneinandergereiht lange Ketten bilden können. Im Eiweißmolekül sind die Polypeptidketten mehr oder weniger geknäuelte und gefaltete. Für viele Proteine konnte in den letzten Jahren von Pauling und Corey (35) durch Röntgenstrahlenbeugungsgitter die Struktur weitgehend aufgeklärt werden. Mit Ausnahme des Glycins sind alle Aminosäuren asymmetrisch, sie drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach links. Verbinden sich diese asymmetrischen Moleküle im Raum so miteinander, daß jedes Molekül mit seinem Nachbarn in gleicher geometrischer Beziehung steht, so beschreibt ein solches Aggregat eine Schraubenlinie (Helix). Zwischen der NH-Gruppe einer Peptidbindungsstelle und der CO-Gruppe einer anderen bestehen Ladungsunterschiede, die zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken führen. Diese Wasserstoffbrücken stabilisieren die Helix. Je nach dem Drehungssinn der Schraube sind auf diese Weise zwei Helixstrukturen möglich, von denen nur eine im Eiweißmolekül vorkommen scheint, die als α -Helix bezeichnet wird. Die Peptidketten von Keratin und Aktomyosin sind in der Form einer α -Helix angeordnet (35). Auch bei anderen Proteinen konnte diese Form nachgewiesen werden (26). Am Aufbau des Eiweißmoleküles sind verschiedene Aminosäuren beteiligt, die weitere reaktionsfähige Gruppen besitzen, wie Arginin, Histidin, Cystin usw. Diese ragen aus den Ketten oder α -Helices radial heraus (33) und können zu solchen anderer Ketten Beziehung aufnehmen. NH- und COOH-Gruppen können unter Salzbildung zusammentreten und SH-Gruppen sich zu einer -S-S-Gruppe verbinden. Dadurch ist die Möglichkeit gegeben, daß mehrere α -Helices zu einem großen Molekül vereinigt werden. So wird auf Grund von Röntgenstrahlenbeugungsdiagrammen angenommen, daß beim Myosin sieben α -Helices zu einer kabelartig gedrehten Verbundhelix zusammengeschlossen sind. Um diese Verbundhelix sind sechs weitere Helices des Aktins angeordnet. Bei der Trennung des Aktins vom Myosin werden die sechs Helices des Aktins von dem siebensträngigen Kabel des Myosins abgeschieden. Das Mengenverhältnis der beiden getrenn-

ten Komponenten stimmt annähernd mit dieser Annahme überein (34).

Die Proteine erscheinen in mannigfaltigen dreidimensionalen Konfigurationen. Von den langgestreckten Fasermolekülen, den fibrillären Eiweißkörpern, bis zu den fast kugeligen Sphäroproteinen sind alle Übergangsstufen möglich. Bei den Faserproteinen sind die Helices annähernd parallel angeordnet, einige davon sind kabelförmig gedreht (33). Die Feststellung der genauen Struktur der Sphäroproteine ist sehr schwierig und bedarf noch der Aufklärung. Untersuchungen über deren Struktur werden sowohl an den Proteinen selbst, als auch an molekularen und kristallinen Aminosäuren, Amiden und einfachen Peptiden durch Röntgenstrahlenbrechung und Absorption von infraroten Strahlen vorgenommen. Wahrscheinlich gibt es in jedem Eiweiß einige spezifische Konfigurationen, nämlich gestreckte, gefaltete und helixförmige Peptidketten (29). Zur Festigung dieser komplizierten Konfigurationen dienen die Brückenbindungen. Diese haben aber nicht die gleiche Stabilität wie die enge chemische Verbindung an den Peptidbindungsstellen. Daher wird auch beim Studium von Denaturierungsvorgängen ein Hauptaugenmerk auf diese Brückenbindungen gelegt (19). Das Festhalten an einer inneren Konfiguration gibt jedem Eiweißkörper eine bestimmte Spezifität. Er behält seine Gestalt, wenn er ausgesalzen, kristallisiert und gelöst wird (19). Dadurch unterscheidet sich das Eiweiß von anderen natürlichen und künstlichen Makromolekülen, die in Lösung ihren ursprünglichen Zustand verlieren. Werden nun einige oder alle Brückenbindungen im Eiweißmolekül gespalten, so geht die spezifische innere Struktur des Proteins verloren und damit ändert sich sein physikalisch-chemisches und biologisch-serologisches Verhalten: der Eiweißkörper ist denaturiert (19). N e u r a t h (31) gibt dazu folgende Definition: Denaturierung ist jede nicht proteolytische Änderung der besonderen Struktur nativen Proteins, die definierbare Änderungen der chemischen, physikalischen oder biologischen Eigenarten feststellen läßt.

B) Denaturierung der Proteine.

1. Denaturierende Einflüsse auf Eiweißkörper und dadurch bedingte Veränderung der Proteineigenschaften.

Verschiedene physikalische und chemische Einwirkungen auf Eiweißkörper bewirken deren Denaturierung. Durch Hitze, Säuren, Laugen, Alkohol, Aceton, hohen Druck, ultraviolettes Licht, Ultraschall, sichtbares Licht usw. kann Denaturierung und Koagulation herbeigeführt werden (15, 19).

Im einzelnen sind bei der Denaturierung folgende Änderungen der Eigenschaften nativer Proteine nachgewiesen worden:

1. Verminderte Löslichkeit.
2. Erhöhte Angreifbarkeit für eiweißspaltende Enzyme.
3. Verlust vieler spezifischer Eigenschaften.
4. Bloßstellung gewisser reaktiver Gruppen der Aminosäurereste (SH- und -S-S-Gruppen), die im nativen Protein nicht oder kaum reagieren.
5. Verlust des Kristallisationsvermögens.
6. Erhöhte oder verminderte Viskosität und Strömungsdoppelbrechung.
7. Veränderung des Molekulargewichtes.
8. Veränderung der Röntgenstrahlenbrechung und der optischen Eigenschaften (15, 31, 44).

Diese Veränderungen der Eigenschaften treten bei der Eiweißdenaturierung durchaus nicht immer alle und im gleichen Maße auf. So werden z.B. durch Harnstoff, Guanidinderivate und Alkylsulfate Eiweißkörper zwar denaturiert, bleiben aber löslich (15). Von vielen Eiweißkörpern wurden die mit verschiedenen Denaturierungsmitteln hervorgerufenen Veränderungen erfaßt und statistisch gesichert (19). Auch die Eigenschaften des Eiweißes selbst sind für seine Beeinflußbarkeit im Sinne einer Denaturierung mitbestimmend. Die Denaturierung ist also durch unterschiedliche Denaturierungsmittel, Denaturierungsveränderungen und Denaturierungsgrade gekennzeichnet.

2. Theorien der Denaturierung.

Die älteste Denaturierungstheorie stammt von W u (48). Er nimmt primär eine Aufhebung der Zwitterionenstruktur an. Der weitere Vorgang besteht

in einer Entfaltung der Polypeptidketten. Die auftretenden zwischenmolekularen Bindungen werden nach W u durch Nebenvaleanzkräfte erzeugt, die eine Flockung bewirken. Durchdringen und verflechten sich die gestreckten Polypeptidketten, so kommt es zur Koagulation. W u kam zu dieser Annahme, weil geflocktes Eiweiß in Säuren und Laugen löslich, koaguliertes aber unlöslich ist. Nach H a u r o w i t z (20) sind aber diese Typen nicht scharf voneinander zu trennen, denn jede Polarisierung bedeutet gleichzeitig elektrostatische Wechselwirkung und räumliche Deformierung. Flockung und Koagulation werden als quantitativ verschiedene Grade der zwischenmolekularen Polarisierung gedeutet. Je weiter bei der Denaturierung die Aufrichtung der Peptidketten fortschreitet, d.h. je weiter die Eiweißknäuel gelockert sind, um so tiefer können die Moleküle bei wechselseitiger Polarisierung ineinander eindringen. Ist die gegenseitige Durchdringung so innig, daß sie auch bei Entladung bestehen bleibt, so fällt der lösende Einfluß von Säuren und Laugen weg und die Flockung ist in Koagulation übergegangen (20). Die geringere Wasserlöslichkeit denaturierten Proteins - auch wenn die Moleküle noch nicht zusammengetreten sind - erklärt W u mit Verlagerung der polaren Gruppen in das Innere des Moleküles und das wiederum durch die größere Raumbeanspruchung der apolaren Seitengruppen der Peptidketten. Dagegen wendet H a u r o w i t z (20) ein, daß polare Gruppen infolge starker Hydratation sicher größeren Raum beanspruchen, als apolare Gruppen.

T o n g u r (44) geht von der Vorstellung aus, daß die Konfiguration des Proteins von verschiedenen Bindungstypen aufrecht erhalten wird. Bei der Denaturierung kommt es in Abhängigkeit von der zur Sprengung erforderlichen Energie zu aufeinanderfolgenden Zerreißen verschiedener Bindungen. Die Denaturierung geht also in verschiedenen Stufen vor sich. Durch Versuche mit Serumalbumin, das durch Hitze denaturiert und unter Druck renaturiert wurde, konnte ein Eiweiß gewonnen werden, das eine Mittelstellung zwischen nativem und denaturiertem einnehmen soll.

S t a u f f (41) hält einen Ablauf der Denaturierung in mehreren Stufen für gesichert. Er sieht in der Entfaltung einen ersten, aber reversiblen Schritt zur Denaturierung. Die Entfaltung läßt sich aber durch Lichtstreuungsmessungen nicht einwandfrei nachweisen, woraus geschlossen wird, daß es sich eher um eine intramolekulare Quellung und Auflockerung handeln könne. Nach S t a u f f spielt die Aufspaltung intramolekularer -S-S-Brücken und die Neubildung solcher Bindungen zwischen verschiedenen

Proteinmolekülen unter Ausbildung regelrechter Polymerisate die ausschlaggebende Rolle. Nach H a m a g u c h i (17) besteht zwischen Resistenz gegen die Denaturierung und dem Gehalt des Proteins an -S-S-Brücken eine Beziehung, die in einer Formel ausgedrückt werden kann.

W a l d s c h m i t t - L e i t z (46) hält den Denaturierungsvorgang bei den verschiedenen Proteinen und mit den verschiedenen Agentien nicht für gleichartig. Ob die bei der Denaturierung bestimmbar werdenden Sulfhydrylgruppen etwa schon im nativen Protein vorhanden, nur weniger reaktionsfähig oder schwerer zugänglich sind, oder ob sie bei der Denaturierung aus Disulfid, Thioester oder Thioaminoäther erst gebildet werden, ist nach seiner Meinung nicht entschieden. Im Übrigen schließt er sich der von W u (48) vertretenen Anschauung der Entfaltung und erneuten Durchdringung bei der Koagulation an, nachdem durch röntgenographische Beobachtungen, wie auch Viskositäts- und Diffusionsmessungen für die Moleküle denaturierten Proteins eine extrem gestreckte Form nachgewiesen wurde, die auch zur Faserbildung neigt.

T s i p e r o v i c h (45) machte Denaturierungsversuche mit hochgereinigtem Eialbumin und Edestin. Als denaturierende Agentien verwendete er Natriumsalicylat, Natriumbenzoat, Kaliumrhodanid, Calciumchlorid, Formamid, Acetamid, Aceton und Formaldehyd. Vom Eialbumin wurden nie größere Mengen denaturiert als 50 - 70 %, vom Edestin bei Behandlung mit NaOH bis zu 90 %, bei Behandlung mit Harnstoff bis 80 %. Nie wurde die gesamte Menge denaturiert, die halbe Menge aber bereits nach 1 - 2 Stunden. Er kommt zu dem Schluß, daß entweder sogar hochgereinigte Proteine unterschiedlich resistent gegen denaturierende Einflüsse sind, oder daß ein Teil der Moleküle durch den Denaturierungsprozeß verändert wird und dadurch die Widerstandskraft gegen weitere Denaturierung anwächst.

Bei Versuchen mit dem resistenten Anteil zeigten sich beim Eialbumin nur noch 10 - 20 % der ursprünglichen Denaturierungsanfälligkeit, während beim Edestin die Resistenz nicht so hoch war. Die stabilisierten Produkte konnten wieder in vollempfindliche Proteine zurückverwandelt werden. Nach Ansicht Tsiperovichs macht also die Denaturierung einen gewissen Teil des Eiweißes gegen weitere Denaturierung resistent.

A r d r y und E l i e (2) bestimmten durch Leitfähigkeitsmessungen die freien basischen und sauren Gruppen von formolierten Proteinen bei verschiedenen Temperaturen. Sie schließen daraus auf das Vorhandensein

von 5 Phasen beim Denaturierungsprozeß, nämlich: Methylenisierung, Hydratation und Auftreten von Methylolgruppen, Kondensation durch Verbindung von freien sauren und basischen Gruppen, intramolekulare Aufspaltung und endlich Verbindung der neugeformten Teilketten.

E d s a l l und M e h l (9) kommen auf Grund von Viskositäts- und Strömungsdoppelbrechungsmessungen zu dem Schluß, daß ein Abfall der Viskosität von Myosinlösungen, die mit verschiedenen Agentien denaturiert wurden, durch ein Aufbrechen der sehr langen Myosinfäden in kürzere und weniger asymmetrische Moleküle zustande kommt, während das Ansteigen der Viskosität globärer Eiweißkörper wie Albumin und Edestin durch Entfaltung des kompakten, nichtdenaturierten Proteins in gestrecktere Ketten zu erklären ist. Sie machen für Viskositätsänderungen nicht die Natur der gelösten Brückenbindungen verantwortlich, sondern die geometrische Konfiguration des nativen Moleküls und die Konfigurationsänderungen beim denaturierten Molekül. Ein weiterer Beweis zum nicht einheitlichen Ablauf des Denaturierungsvorganges ist die Beobachtung, daß die Konzentration, bei der Harnstoff- und Guanidindenaturierung die Strömungsdoppelbrechung stören, viel geringer ist, als diejenige, bei der ein Ansteigen von nachweisbaren SH- Gruppen festzustellen ist. So wirken auch die Salze KJ, KSCN, $MgCl_2$, $CaCl_2$, LiCl nicht auf titrierbare SH - Gruppen, dagegen auf die Strömungsdoppelbrechung stark zerstörend. Das Abfallen der Strömungsdoppelbrechung scheint immer Hand in Hand mit Viskositätsabfall zu gehen, wobei die Veränderung durch chemische Agentien oder Hitze hervorgerufen werden kann. Veränderungen dieser Eigenschaften sind nach E d s a l l und M e h l in molekularer Asymmetrie begründet, während Veränderungen bei den SH - Gruppen von anderen Zuständen der molekularen Konfiguration abhängen, deren Natur gegenwärtig noch unklar definiert ist.

Nach Z i t t l e und D e l l a - M o n i c a (49) steigt die Viskosität erhitzter Proteinlösungen besonders stark bei Salzanwesenheit an. Die Hitzeeinwirkung führt nicht nur über Änderungen der Molekülgestalt zu einer Viskositätserhöhung, sondern auch wechselseitige Reaktionen zwischen den Molekülen lassen die Viskosität bei Anwesenheit von Salzen ansteigen und wirken am stärksten nahe dem isoelektrischen Punkt.

H a u r o w i t z (19, 20) vermutet eine primäre Sprengung der innermolekularen Anziehung zwischen positiven und negativen Atomgruppen. Dadurch richten sich die im nativen Molekül geknäuelten und gespannten Peptidketten auf. Die damit verbundene Lockerung des Eiweißmoleküls er-

leichtert die gegenseitige Polarisierung der Eiweißmoleküle. Sie führt zur Molekülverknüpfung, zur Bildung großer Aggregate und damit zum Ausflocken. Innerhalb des Moleküls tritt eine Änderung der spezifischen Molekülstruktur auf, wenn sich die Peptidketten entfalten. Die Art der Denaturierung entscheidet, ob die auseinandergerissenen Ketten in ihrem ungefalteten Zustand verbleiben, ob sie sich zur ursprünglichen, spezifischen Struktur zurückfalten, oder ob eine Struktur entsteht, die sich von der ursprünglichen unterscheidet. Vom energetischen Standpunkt aus wird das Proteinmolekül gegen eine Denaturierung durch eine Energiebarriere bewahrt. Wird diese Barriere vom denaturierenden Agens überwältigt, so werden die Peptidketten aus der ursprünglichen Anordnung gelöst und nehmen eine neue Stellung ein. In dieser entsprechen sie ihrer Masse und elektrischen Ladung und richten sich nach dem mechanischen Druck, der von anliegenden Teilen des Moleküls ausgeübt wird. Ebenso werden sie beeinflusst durch Zusammenstoß mit den Molekülen des Lösungsmittels. Offenbar kann das Ausmaß der Denaturierung variieren zwischen unbedeutenden strukturellen Veränderungen bis zur völligen Neuordnung der Peptidketten.

C o l v i n (7) vergleicht das Eiweißmolekül mit einem Mikrokristall. Er nimmt für Eiweiß Strukturelemente von bestimmter Orientierung und Periodizität an, wie sie bei einfachen Legierungen und organischen Hochpolymeren zu finden sind. Solche Elemente können Aminosäurereste, Segmente von Polypeptidhelices, ganze Polypeptidketten oder Bündel solcher Ketten je nach Art des Eiweißes sein. Jeder Gitterpunkt des Kristalles wäre von einem dieser Strukturelemente besetzt und es würde, bezogen auf die räumliche Verteilung, ein Ordnungszustand in diesem System herrschen. Die einzelnen Gitterpunkte schwingen um ihre Gleichgewichtsposition wie in einem Kristall. Bei Energiezufuhr werden die Schwingungen größer und beeinflussen sich gegenseitig. Unter Umständen wird das eine oder andere Element genügend Energie aufnehmen, um seine Stellung ändern zu können. Es würde also ein Kern von Unordnung im Kristallgitter entstehen, der die Tendenz hat sich über den Mikrokristall auszubreiten, bis er durch den Rand des Moleküls oder durch starke kovalente Bindungen z.B. Disulfidbrücken zwischen Ketten aufgehalten wird. Durch diese fortwandernde Unordnung würde das Endprodukt jeder spezifischen Konfiguration entbehren. Auch S c h e l l m a n n und L i n d e r s t r ø m - L a n g (38) vergleichen natives Protein mit einem Mikrokristall und finden zwischen dem Schmelzvorgang kleiner Kristalle und den Gegebenheiten bei der Hitze-denaturierung mehrere Analogien.

H a u r o w i t z (19) bringt in einer Zusammenfassung, wie man sich Denaturierungsveränderungen durch die oben beschriebenen, verschiedenen Agentien heute vorstellt. Sie ist nachstehend durch neuere Ergebnisse ergänzt:

a) Denaturierung durch Säuren und Laugen.

Der denaturierende Effekt von Säuren und Laugen wird durch Einwirkung auf die ionisierten Gruppen des Proteins erklärt. Säuren verwandeln COO^- in COOH -Gruppen, so daß Salzbrücken $\text{COO}^- \dots \text{NH}_3^+$ aufgespalten werden und gefaltete Ketten sich entfalten. Der Vorgang bei Alkali wirkt analog auf die positiven Gruppen. Die entfalteten Ketten sind durch Viskositäts-erhöhung nachweisbar. Beim Neutralisieren kehrt das Protein zu seinem ampho-teren Verhalten zurück und verschiedene der ursprünglichen Salzbrücken werden wieder gebildet. Allerdings werden infolge der räumlichen Verschiebung auch neue Salzbrücken entstehen, die im ursprünglichen Molekül nicht vorlagen. Oberflächlich gelagerte positive und negative Gruppen der herausragenden Peptidketten werden mit ebensolchen anderer, benachbarter Moleküle unter Salzbildung reagieren und damit je nach Fortschritt der Denaturierung unlösliche Aggregate und Koagulate bilden.

b) Denaturierung durch Hitze.

Wird Denaturierung durch Hitze verursacht, behalten die Proteine zwar ihren zwitterionischen Status, die ursprünglichen Salzbrücken aber werden durch thermale Bewegung der Peptidketten gesprengt. Durch Neubildung intra- und intermolekularer Salzbrücken kommt es zur Koagulation. Polypeptidketten können sich aber nur entfalten, wenn Wasser in die entstehenden Räume einströmen kann. Getrocknete Proteine sind also wesentlich hitzeresistenter als gelöste Proteine. Ebenso sind auch hochkonzentrierte Proteinlösungen stabiler als geringer konzentrierte. Konzentrierte Zuck-erlösungen können Denaturation und Koagulation weitgehend verhindern, weil offenbar das nötige Wasser zum Eindringen in das Molekül fehlt und die Zuckermoleküle mit dem Eiweißmolekül einen größeren, löslichen Komplex bilden. Denaturation findet bei jeder Temperatur statt, doch nimmt sie bei steigenden Temperaturen zu. Auch der p_{H} -Wert des Lösungsmittels spielt eine Rolle; bei einem p_{H} zwischen isoelektrischem und Neutralpunkt scheint die Zunahme am geringsten zu sein. Hitzedenaturiertes Eiweiß zeigt eine erhöhte Aggregationsbereitschaft, die mengenmäßig vom p_{H} -Wert, der Ionenstärke und der Dielektrizitätskonstanten des Mediums abhängt.

c) Denaturierung durch Schütteln, Rühren und an Oberflächen.

Denaturierung durch starkes Schütteln und Rühren entspricht im wesentlichen der Oberflächendenaturierung, denn es entsteht ein Schaum, in dessen einzelnen Blasenwänden sich die Proteine als ein dünner Film verteilen. Die Anlagerung der Proteine an Grenzflächen läuft in drei Hauptstadien ab:

1. Verteilung des nativen Proteins und Adsorption in der globären Form.
2. Oberflächendenaturierung des adsorbierten Proteins, indem sich die Polypeptidketten an der Grenzfläche entfalten. Die Aminosäurereste auf einer Seite der Polypeptidketten sind überwiegend hydrophob, während die auf der anderen Seite hydrophil sind.
3. Verbindung der entfalteten Kette zu einem Koagulum, das weitgehend ohne Oberflächenaktivität ist und folglich durch den Spreitungsdruck des nativen Proteins aus der Grenzfläche gedrückt wird.

Der Temperaturkoeffizient der Oberflächenkoagulation ist geringer als bei der Hitzedenaturierung, was dadurch erklärt werden kann, daß die Polypeptidketten an Grenzflächen schon annähernd in einer Dimension angeordnet sind. Möglicherweise wirkt die Oberfläche als ein Katalysator für die Proteindenaturierung (8).

Die Spreitung der Proteine in Oberflächenfilme ist von einer totalen Entfaltung der Peptidketten begleitet. Es entsteht eine dünne Schicht, deren Dicke mit dem transversalen Durchmesser einer einzelnen Peptidkette übereinstimmt. Alle Sulfhydrylgruppen können dadurch nachgewiesen werden, weil sie oberflächlich liegen. Denaturierte Proteine können keine Oberflächenfilme mehr bilden, da bei ihnen der inter- und intramolekulare Zusammenhalt so groß ist, daß er von den Spreitungs Kräften nicht überwunden werden kann (31). Gelöstes, denaturiertes Protein kann dagegen häufig monomolekulare Filme bilden. Diese Fähigkeit steigt nach kurzer Einwirkung von Trypsin an.

d) Mechanische Denaturierung.

Getrocknete native Proteine werden denaturiert, wenn das Pulver kräftig gemahlen wird. Diese Denaturierung ist wahrscheinlich durch die mechanische Deformation oder durch das Auseinanderreißen der Peptidketten verursacht. Pepsin wird bei Druck von 6000 kg/cm^2 völlig inaktiviert und bei $10\,000 \text{ kg/cm}^2$ koaguliert (31). Bei Eialbumin werden durch Mahlen

Sulfhydrylgruppen frei. Ihre Anzahl erreicht nach einer gewissen Zeit ein Maximum, um dann wieder abzufallen. Die Löslichkeit fällt zunächst, um dann wieder anzusteigen. Bei längerer Mahlbehandlung von Wolle wird ein Ansteigen der Wasserlöslichkeit und der titrierbaren Sulfhydrylgruppen erreicht. Die Angreifbarkeit durch Enzyme steigt ebenfalls an (30).

e) Denaturierung durch Einfrieren und Auftauen.

Viele Proteine behalten ihren nativen Charakter, wenn sie häufig eingefroren und aufgetaut werden. Die Löslichkeit von Lipoproteinen, Fischmyosin (32) und die biologische Aktivität von Antikörpern (44) werden aber dadurch beeinträchtigt. pH -Wert, Salzkonzentration und Temperatur des Lösungsmittels sind dabei bedeutungsvoll (31).

f) Denaturierung durch Licht und UV-Strahlen.

Für die Eiweißdenaturierung durch Strahlen ist deren Absorption entscheidend. Beim Licht sind Wellenlängen von 2700 - 2800 Å, bei UV-Strahlen 3000 - 4000 Å wirksam, nach C l a e s s o n (6) nur solche unter 3000 Å. Neuauftretende -S-S- Gruppen stammen aus photochemischer Hydrolyse durch Quanten. Die Bindungsenergie der -S-S- Bindung beträgt 64 kcal/Mol, während ein Lichtquant wirksamer Wellenlänge eine Energie von 100 kcal/mol besitzt. Die Absorption eines wirksamen Lichtquants müßte in der -S-S- Bindung eine so starke Aktivierung hervorrufen, daß unmittelbar danach durch photochemische Reaktion, die hier in einer Dissoziation besteht, die Bindung gespalten würde. Ein großer Teil der absorbierten Energie wird aber nicht direkt von der -S-S- Bindung, sondern von den sehr viel stärker chromophoren aromatischen Ringen absorbiert, so daß Absorptionsort und Reaktionsort nicht gleich sind. Die notwendige Energiefortleitung könnte durch Austausch über die Schwingungsfreiheitsgrade der zwischenliegenden Atome erfolgen, wobei die Energie schon nach wenigen Atomen abgeklungen sein dürfte und die schwachen -S-S- Bindungen in unmittelbarer Nähe der hochabsorbierenden aromatischen Ringe liegen müßten, könnte aber auch durch Energieleitung verlustlos über lange Strecken befördert werden (11). Nach C l a e s s o n (6) können ausser den aromatischen Ringen und -S-S-Brücken auch Peptidbindungsstellen und Seitenketten Lichtquanten absorbieren. So kann durch photochemische Hydrolyse auch eine, den aromati-

schen Ringen benachbarte, Peptidbindung gesprengt werden.

g) Ultraschalldenaturation.

Ultraschall wirkt auf drei verschiedenen Wegen:

1. durch mechanische Insulte,
2. durch thermische Wirkungen,
3. durch Sauerstoffabspaltung aus Wasser.

Auch hier werden aromatische Ringe zerstört und dadurch eine Denaturierung herbeigeführt. Niederfrequenter Ultraschall löst Aggregate voneinander, hochfrequenter führt zu unlöslichen Aggregaten.

h) Denaturierung durch Harnstoff, Guanidin usw.

Die interessantesten denaturierenden Agentien sind Harnstoff, Säureamide, Alkylsulfate und einige Guanidinderivate. Harnstoff ist weder basisch noch sauer, er ist nicht toxisch und nicht oberflächenaktiv, läßt aber die Dielektrizitätskonstante des Wassers ansteigen. Harnstoff ist ein Dipol und verwandelt seine normale, unpolare Struktur in wässrigen Lösungen zu einer polaren Struktur. Wahrscheinlich wird die denaturierende Eigenschaft konzentrierter Harnstofflösungen durch die Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Peptidbindungen der Ketten bedingt. Die kleinen, polaren Harnstoffmoleküle werden durch thermische Bewegungskräfte wie Keile zwischen die Peptidketten getrieben. Dort lösen sie die Wasserstoffbrücken und werden selbst unter Bildung neuer Wasserstoffbrücken an die freien Peptidbindungsstellen gebunden. Die Ketten werden dadurch entfaltet und denaturiert. Säureamide wirken, wie ihre Formel vermuten läßt, in gleicher Weise. Im allgemeinen bleiben die Proteine nach Harnstoffbehandlung in Lösung. Ihre denaturierende Wirkung äußert sich besonders durch Zunahme freier Sulfhydrylgruppen, die mit Ferrocyanid-Titration, durch den Nitroprussidtest und durch Acetylierung nachgewiesen werden können. Diese Beobachtung bestärken die Ansicht, daß reaktionsfähige Gruppen im nativen Eiweiß für verschiedene Reagentien erst dann greifbar werden, wenn sich die Peptidketten entfalten (19). Weil gerade die stabilsten und enzymatisch am schwersten angreifbaren Proteine viele Thioaminosäuren enthalten, wird diesen eine besondere Bedeutung zur Stabilisierung der Eiweißkonfiguration zugeschrieben. Viele Eigenarten des Keratins sind durch die Wirkung von Schwe-

felbrücken erklärt worden (31). Auch beim Myosin scheinen die Sulfhydrylgruppen eine besondere Rolle zu spielen.

3. Renaturierung.

Nach vorsichtiger Denaturierung kann man sowohl Hämoglobin als Serumalbumin wieder in native Eiweißkörper zurückverwandeln. In den meisten Eigenschaften entsprechen sie dann den ursprünglichen Eiweißkörpern. Auch bei vielen anderen Proteinen (15, 19, 31, 44) ist dieses Phänomen zu beobachten. Die Renaturierung ist im allgemeinen keine vollständige; hinsichtlich Löslichkeit, enzymatischer Angreifbarkeit, elektrischer Wanderungsgeschwindigkeit usw. bestehen Unterschiede zum nativen Protein (15). Reaktiviertes Enzym verliert seine Wirksamkeit beim Stehen wieder und die Stabilität ist viel geringer als vor der Denaturierung (10). Nach einem Teil der Forscher erfolgt der Ablauf der Denaturierung nach dem "Alles oder Nichts Gesetz", das heißt, daß beim Denaturierungsvorgang ein Teil der Moleküle vollständig, irreversibel und ohne stabile Zwischenstufen denaturiert. Ein anderer Teil widersteht den denaturierenden Einflüssen und behält seine native Struktur vollkommen. Ist einmal eine Gestaltsveränderung bei den ausserordentlich kompliziert gebauten Eiweißkörpern eingetreten, so ist eine Rückkehr zu dieser komplizierten Struktur nach Aufhören der Wirkung des Denaturierungsmittels sehr unwahrscheinlich. Ist allerdings die Konfiguration der Peptidketten im nativen Molekül sehr stabil und sind die Ketten dabei am wenigsten in Spannungen und Verkrümmungen angeordnet, so werden sie in diesen Zustand zurückkehren können, wenn die Einwirkung des Denaturierungsmittels nachläßt (19, 44). Es konnte z.B. für ein Sojabohnenprotein ein Gleichgewichtsverhältnis natives Protein $\rightleftharpoons$ denaturiertes Protein aufgestellt werden, das sich bei Temperaturerhöhung nach der rechten Seite verschiebt (44). Eine Renaturierung wird also von der Stabilität des nativen Proteins abhängen. H a u r o w i t z (19) nimmt an, daß die Konfiguration der Peptidketten von de- und renaturiertem Eiweiß zwischen der vom nativen bis zum mehr oder weniger denaturierten Zustand variiert. Solange es keine einfache Methode gibt zu entscheiden, ob eine teilweise denaturierte Proteinlösung unvollständig denaturiertes Protein enthält, oder eine Mischung von völlig denaturiertem und nativem Protein darstellt, wird diese Frage zur Diskussion stehen (19).

Auch nach N e u r a t h (31) muß es verschiedene Grade der Denaturierung

geben, die vom Ausmaß der strukturellen Veränderungen abhängen. Ein völlig denaturiertes Protein würde jeglicher spezifischer Struktur beraubt sein, das heißt, es würde als eine völlig entfaltete Polypeptidkette vorliegen oder zumindest in einem Faltungszustand sein, der rein zufällig durch die Zwischenwirkung von Aminosäureseitenketten bestimmt wird. Zwischenstufen der Denaturierung wurden von Greenstein und Neurath in einigen Fällen beobachtet. Für eine exakte Umkehrbarkeit des Denaturierungsvorgangs wäre eine weitreichende Elastizität der Peptidketten nötig, die eine Kontraktion zur verdichteten Konfiguration erleichtern würde. Außerdem müßte ein Mechanismus vorliegen, der jede Kette und jeden Rest in die gleiche sterische Position zurückführt, die im nativen Proteinmolekül eingenommen wurde. Aus rein statistischen Gründen wäre es aber sehr unwahrscheinlich, daß jede Gruppe und jeder Peptidkettenrest zur spezifischen Stellung im nativen Protein zurückfindet (31).

4. Denaturierung von Muskeleiweißkörpern.

Aus Muskelzellen werden verschiedene Eiweißkörper eliminiert, die sich stark voneinander unterscheiden. Im einzelnen werden sie in wasserlösliche (Myogen, Myoalbumin und Myoglobin) und in wasserunlösliche (Globulin X, die Myosingruppe, Tropomyosin, Peptomyosin, N-Protein, Y-Protein und das Stromaeiweiß) eingeteilt (27). Den prozentual größten Anteil nimmt das Myosin ein und es ist wohl auch der physiologisch wichtigste Muskeleiweißkörper, denn es stellt das kontraktile Element aller Muskeln dar. In der Nomenklatur ergeben sich Schwierigkeiten, denn das Myosin der älteren Literatur erwies sich als zusammengesetzt aus Aktin und Myosin und wird heute als Aktomyosin bezeichnet. Daß auch Aktin und Myosin nicht einheitlich sind, ist für diese Arbeit nicht von Bedeutung. Die hier beschriebenen Versuchsergebnisse stammen größtenteils aus der älteren Literatur und beziehen sich auf die gesamte Myosinfraktion, deren Zusammensetzung im einzelnen nicht mehr rekonstruiert werden kann. Die Muskeleiweißkörper liegen teils fest, teils gelöst, teils als Gerüstsubstanz vor und erfüllen mannigfaltige, physiologische Aufgaben. Diese unterschiedlichen Gegebenheiten sind auch der Grund für das verschiedene Verhalten gegenüber denaturierenden Einflüssen. Es liegen nur wenig Berichte über Denaturierungsversuche an Muskeleiweißkörpern vor.

a) Denaturierung von Myogen und Myoalbumin.

B a t e - S m i t h (4) hat aus Kaninchenmuskulatur einen Preßsaft gewonnen, der nach entsprechender Behandlung weitgehend frei war von Myosin und anderen Globulinen und nur noch die Albumine und kleine Mengen Myoglobin und Metmyoglobin enthielt. Wenn der Preßsaft bei Zimmertemperatur oder 0° stehen blieb, formte sich langsam ein Niederschlag. Die Bildung des Niederschlags wurde durch Zufügen von Salz beschleunigt und noch mehr bei Zufügen von Säure. Säurezugabe bei Salzabwesenheit verursacht keine Präzipitation. Beim Neutralisieren wurde aber unmittelbar ein Präzipitat gebildet. Das weist darauf hin, daß ein Denaturieren ohne Koagulation stattgefunden hat. Das Präzipitat hat seinen isoelektrischen Punkt bei p_H 6,3 - 6,7 und besteht aus weitgehend, wenn nicht aus völlig denaturiertem Myogen. Es ist unlöslich zwischen p_H 5,8 und 7,5 und bei Gegenwart von Salzen wird die Unlöslichkeitszone erweitert. Bei 0,5 m KCl Lösung findet ein Ausflocken bereits bei p_H 2 statt. Wenn zu dem Preßsaft eine n/100 HCl Lösung im Verhältnis 1:1 zugegeben wird, präzipitiert die größte Menge des Proteins in denaturierter Form. Wenn diese saure Lösung mit einem p_H -Wert zwischen 3 und 4 bei Zimmertemperatur gehalten oder bis 100 Grad erwärmt wird, denaturiert eine weitere Menge von Protein (noch ohne feststellbares Ausflocken), aber ein Rest von ungefähr 10 - 20 % des Proteins bleibt nach dem Neutralisieren in Lösung. Durch fraktionierte Hitze-koagulation konnte gezeigt werden, daß Myoalbumin eine höhere Hitze-koagulationstemperatur hat als Myogen. Durch langsames Erwärmen begann bei 48° eine Koagulation und bei 55° erschien ein deutliches Koagulum. Das Koagulum wurde abgefiltert und das Filtrat weiter auf 62,5, 72, 80 und 90 Grad erwärmt. Bei jeder Stufe wurde das Präzipitat gesammelt, gewaschen und der isoelektrische Punkt gemessen. Keine der Fraktionen war reines Myogen oder Myoalbumin, aber die Koagulate, die bei höheren Temperaturen gewonnen wurden, enthielten zweifellos mehr Myoalbumin. Wenn Myogen mit Harnstoff behandelt wird, zerfällt es in Hälften, welche weitere Veränderungen erleiden, indem sie sich bei der Dissoziation entfalten. Für natives Myogen wurde durch Diffusions- und Sedimentationsmessungen ein Molekulargewicht von 150 000 ermittelt, für denaturiertes 72 000. Die denaturierten Halbmoleküle sind anscheinend asymmetrischer als durch die bloße Dissoziation zu erwarten wäre (31).

b) Denaturierung des Myosins.

Weitreichende Untersuchungen wurden über denaturierende Einflüsse auf Myosin angestellt. Denaturierungsveränderungen des Myosins werden auf Grund eines genauen Studiums dieses Eiweißkörpers verständlich. Myosin kann nach einem besonderen Verfahren gewonnen werden (4). Die Löslichkeit hängt ab von der Salz- und Wasserstoffionenkonzentration. Die Myosinlösung zeigt hohe Viskosität und starke Strömungsdoppelbrechung. Der I.P. des Myosins liegt bei $p_H \approx 5,4$. Das Molekulargewicht des einzelnen Moleküls beträgt auf Grund verschiedener Messungen wahrscheinlich etwa 840 000 (42, 43). Alle Messungen ergaben ein sehr dünnes und langes Partikelchen mit einer hohen axialen Asymmetrie. Da der Durchmesser unterhalb des Auflösungsvermögens des Elektronenmikroskopes liegt, lassen sich nur Aggregate in Form dünner Fäden darstellen (37). Die Stabilität des Myosins hängt sehr von den äußeren Bedingungen ab. Die Absorptionskraft gegenüber Ionen leidet schnell bei Lagerung, während die ATPase-Aktivität in 0,6 m KCl, bei p_H 7 und 0° C unverändert über Wochen erhalten bleibt. Wird diese Lösung eine Stunde bei 37 Grad gehalten, verdoppelt sich die Viskosität und zeigt eine Denaturierung an, die durch ATP verhindert werden kann. ATP wirkt auf Myosin als Stabilisator (12). Wenn die Salzlösung des Myosins mit dem gleichen Teil Glyzerin verdünnt wird, kann bei tiefen Temperaturen die Kontraktilität monatelang unverändert bleiben (-20 Grad). Wenn die Salzeiweißlösung über Nacht bei 0 Grad gehalten wird, bildet sich eine kleine Menge unlöslichen Präzipitates, das sich langsam absetzt (43).

Einwirkung von Säuren und Laugen.

Durch starke Säuren und Laugen wird Myosin völlig zerstört und auch am isoelektrischen Punkt schnell denaturiert, wenn Salze anwesend sind. An diesem Punkt ist es weitgehend stabil, wenn Salze fehlen (43). Bei Behandlung mit verdünnten Mineralsäuren unter Salzabwesenheit löst sich Myosin bei einem p_H wenig unter seinem isoelektrischen Punkt. Seine Eigenschaften werden wenig geändert, wenn die Lösung neutralisiert wird. Das repräzipitierte Protein löst sich in Salzlösungen ebenso, wie unbehandeltes Myosin. Die Myosinlösung in Säure zeigt Strömungsdoppelbrechung erst wieder nach Neutralisation und bei Anwesenheit von Salz (4). Das Wiederauftreten der Strömungsdoppelbrechung konnte dagegen von E d s a l l (9) nicht beobachtet werden.

Einwirkung von Temperatur.

Kühl aufbewahrtes Myosin denaturiert nicht. Steigt aber die Temperatur wenig über Zimmertemperatur, so verliert das Protein nach und nach seine Salzlöslichkeit. Wird das salzfreie Protein 24 Stunden bei 25 - 30 Grad aufbewahrt, so bildet sich langsam ein unlösliches Koagulum. Bei 40 - 45 Grad koaguliert das Protein schnell. Eine graduelle Verschiebung der Löslichkeitskurve ist vielleicht ein Hinweis auf die Existenz von Zwischenstufen zwischen nativem und hitze-koaguliertem Protein (4). Nach E d s a l l und M e h l (9) beginnt Myosin schon nahe 38 Grad rasch zu koagulieren. Myosin in einer Konzentration von 1 % präzipitiert rasch, wenn es 2 - 3 Minuten auf 100 Grad erwärmt wird. Bei niedrigeren Konzentrationen (unter 0,4 %) präzipitiert es nicht, auch wenn es auf dem kochenden Wasserbad 6 Minuten erwärmt wird. Dafür wird die Lösung deutlich opaleszierender und ist nach dem Abkühlen weniger viskös, als sie ursprünglich war. Die Strömungsdoppelbrechung ist völlig zerstört. Das Protein präzipitiert, wenn es durch Säure auf einen p_H von 5 - 6 gebracht wird, aber das Präzipitat ist fein flockig, nicht faserig und gelatinähnlich wie säure-denaturiertes Myosin (9).

Wirkung denaturierender Agentien auf die Strömungsdoppelbrechung.

Harnstoff, Jodide und Thiocyanate vermindern rasch die Strömungsdoppelbrechung soweit, daß die Lösung isotrop erscheint. Auch Stoffe, die nicht als denaturierende Agentien bekannt sind, können das bewirken. Gleichzeitig wird immer auch die Viskosität herabgesetzt (9). Guanidinderivate zerstören die Strömungsdoppelbrechung schon bei niedrigen Konzentrationen. Harnstoff und Methylharnstoff haben eine ähnliche Wirkung erst bei etwa 5 mal so hohen Konzentrationen. Alle diese Substanzen beeinflussen die Strömungsdoppelbrechung schon erheblich bei Konzentrationen, die so niedrig sind, daß sie sich auf titrierbare SH-Gruppen des Myosins nicht auswirken.

Die Chloride bivalenter Kationen (Ca^{++} , Mg^{++} , Ba^{++}) sind die kräftigsten denaturierenden Agentien, denn sie bewirken rasche Änderungen des Myosins schon bei Konzentrationen unter 0,3 m.

Die denaturierende Wirkung der Halogene steigt an von Cl^- über Br^- zum J^- , die der Kationen von Alkalimetallen von K^+ über Na^+ zum Li^+ .

Sulfate scheinen eine geringere denaturierende Wirkung zu haben, als entsprechende Chloride (9).

Im Hinblick auf das Beibehalten der Strömungsdoppelbrechung scheint Myosin in Kaliumchlorid-, Kaliumsulfat- und Kaliumphosphatpuffern nahe p_H 7 stabiler zu sein, als in den entsprechenden Na-Salzen (9). Nach ^H z e n t - G y ö r g y i (43) ist allerdings Myosin nicht in der Lage, zwischen Kalium und Natrium zu unterscheiden.

Die Konzentration denaturierender Agentien hat einen außerordentlich großen Einfluß auf den Verlust der Strömungsdoppelbrechung. So war Kaninchenmyosin fast unbegrenzt stabil in 0,075 m Guanidinjodid. Mit 0,14 m dieses Salzes verschwand die Strömungsdoppelbrechung nach einer Stunde, bei 0,28 m nach 30 Sekunden (43).

Wirkung denaturierender Agentien auf die Viskosität.

Die hohe Viskosität nativer Myosinlösungen beweist die weitgehende Asymmetrie der Myosinmoleküle. Guanidin und Harnstoff vermindern die Viskosität von Myosinlösungen, machen also die Moleküle symmetrischer. Harnstoff ist weniger wirksam, da eine 5 m Harnstofflösung nur etwa die gleiche Wirkung hat, wie eine 3,24 m Guanidinhydrochloridlösung. Es scheint eine unveränderliche Korrelation zwischen Herabsetzung der Viskosität und dem Verlust der Strömungsdoppelbrechung zu bestehen, während es keine Korrelation zwischen Viskositätsänderung und Auftreten titrierbarer -SH- Gruppe gibt. Bei Myosin zeigt sich nach Einwirkung denaturierender Agentien ein Viskositätsabfall, während bei globulären Eiweißkörpern die Viskosität nach Denaturierung ansteigt. Auch die Viskositätsänderung ist von der Konzentration des denaturierenden Agens abhängig (9).

Die Löslichkeit denaturierten Myosins.

Keines der hier besprochenen, denaturierenden Agentien zerstörte die Löslichkeit des Myosins in gewöhnlichen Salzlösungen (mit Ausnahme von Hitze in einigen Fällen). Nach der Behandlung mit jedem dieser Agentien konnte das Protein durch Verdünnung mit destilliertem, kaltem Wasser ausgefällt werden. Wurde es abzentrifugiert und so oft gewaschen, bis es frei war von dem Denaturierungsmittel, löste es sich

wieder nach Zugabe von KCl. Es verhielt sich weiterhin wie ein typisches Globulin; vielleicht war es vor der Denaturierung leichter löslich in verdünnten Salzlösungen. Keine Behandlungsweise konnte aber die Strömungsdoppelbrechung wieder herstellen, wenn diese Eigenschaft einmal verloren war (9, 31).

Die Einwirkung denaturierender Agentien auf Viskosität und Strömungsdoppelbrechung zeigen eindeutig, daß die Länge und Asymmetrie der Moleküle durch solche Reagentien reduziert wird (9). Neuraath vermutet ein Aufspalten in kleinere Bruchstücke, da für natives Myosin ein Molekulargewicht von ungefähr 10^6 , für Myosin in 6,66 m Harnstofflösung ein solches von nur etwa 10^5 festgestellt wurde (42).

Im Elektronenmikroskop zeigte denaturiertes Aktomyosin mehr oder weniger feine Netze, die wenig elastisch sind und eine völlig andere Struktur aufweisen als natives Myosin (37).

5. Denaturierung bei der Zerkleinerung von Fleisch.

Für die Zerkleinerung bei der Fleischverarbeitung finden hauptsächlich Wolf, Kutter und neuerdings auch die Kolloidmühle Verwendung. Dabei wird das Fleisch einer mechanischen Beanspruchung ausgesetzt und ein gewisser Teil von Bewegungsenergie in Wärme verwandelt. Das Arbeitsprinzip von Wolf und Kutter hat sich seit deren Einführung nicht wesentlich geändert und M i l k i (28) weist darauf hin, daß die Probleme der mechanischen Verarbeitung von Fleisch in beiden Maschinentypen noch weitgehend ungeklärt sind, und daß die dort verwirklichteten Verarbeitungsprozesse sehr wahrscheinlich kein Optimum darstellen.

Zerkleinerung im Wolf.

Im Wolf wird durch eine Förderschnecke das zu zerkleinernde Gut an einen Schneidsatz herangeführt, der aus einem auf einer Lochscheibe rotierendem Messer besteht. Durch ständiges Nachdrücken noch unzerkleinerten Fleisches wird das Geschnittene in Form langer Fäden aus der Lochscheibe herausgedrückt. Eine vor allem bei rohem Material unerwünschte Erwärmung tritt auf, wenn durch stumpfe Messer das Fleisch nicht zerkleinert, sondern durch ständige Zuführung neuen Materials

in der Schnecke zerquetscht und durch die Lochscheibe nur ausgepreßt wird. Auch Fördermenge der Schnecke und Schnittleistungsfähigkeit der Messer müssen einander angepaßt sein, weil sonst ein ähnlich unerwünschter Vorgang stattfindet, wie bei stumpfen Messern. Je schneller der Wolf läuft, um so mehr erwärmt sich das auf der Lochscheibe gleitende Messer. Wird durch die Schnecke nicht genügend Material zum Schneidsatz befördert, um das schon zerkleinerte Gut herauszudrücken, so verbleibt dieses zu lange in der Nähe der rasch rotierenden Messer und nimmt von diesen Wärme auf.

Eine weitgehende Schonung des Materials war immer das Ziel bei allen Verbesserungsvorschlägen, denn auf Grund langer Erfahrung wurde eine Erwärmung stets als qualitätsmindernd und vor allem bei der Brühwurstbrätherstellung als ein die Bindefähigkeit des Bräts nachteilig beeinflussender Faktor angesehen (5). Dies ist auch der Grund, warum teilweise heute noch bei der Herstellung von Rohwurst erster Qualität die Zerkleinerung auf dem Wiegeblock allen modernen Maschinen vorgezogen wird; das Fleisch wird hierbei am schonendsten geschnitten (36).

Zerkleinerung im Kutter.

Für viele Wurstsorten ist eine weitergehende Zerkleinerung als im Wolf nötig. Zur Herstellung von Brühwürsten wird im Kutter unter Wasser- und Salzzugabe ein Brät angefertigt. Das Rohmaterial wird dabei in eine drehbare, von einem Deckel teilweise überdachte Schüssel eingebracht, und von senkrecht dazu rotierenden Messern zerkleinert. Durch die Reibung der mit 1400 - 3000 Umdrehungen in der Minute laufenden Messer erfährt das Fleisch auch eine gewisse Erwärmung. Messungen ergaben eine Temperaturerhöhung um 10 Grad innerhalb von fünf Minuten. Um dieser Erwärmung entgegenzuwirken, wird mit Eis oder Eiswasser gearbeitet. Die "Schüttung" wird bei der Zerkleinerung und Verteilung des Fleisches von diesem aufgenommen und es entsteht so ein teigartiges Wurstbrät (5). Wird das zu zerkleinernde Fleisch nicht genügend durch Eis oder tiefgekühltes Wasser gegen den Einfluß der Wärmestöße geschützt, welche die mit sehr hohen Tourenzahlen umlaufenden Kuttermesser fortgesetzt im Fleisch erzeugen, so wirkt sich das in einer Schädigung aus, die als "Verbrennen" oder "Kurzwerden" des Brätes bezeichnet wird. Wurstbrät, das mehr oder weniger große Mengen geschädigter Eiweißpar-

tikel enthält, hat eine verminderte bis fehlende Wasserbindefähigkeit. Solches Brät führt zu einem trocken=strohigem Erzeugnis. In leichteren Fällen ist die Konsistenz solcher Würste grob und wollig; im schlimmsten Fall ist der Wurstinhalt aus einzelnen Fleischbröseln zusammengesetzt, die beim Anschneiden auseinanderfallen; der Metzger spricht dann von einer "Sägemehlwurst" (5).

Für die Beurteilung der Qualität des Brätes beim Herstellungsvorgang gibt es keine exakte Meßmethode. Der Bräthersteller richtet sich nach seinen Erfahrungen bezüglich der Konsistenz des Brätes. Seine Prüfung mit der Hand wird als "Metzgergriff" bezeichnet. Nach einer fachmännischen Regel darf das Brät nicht über handwarm werden. Die Handtemperatur schwankt aber individuell zwischen 22 und 32° C und ist auch von anderen Umständen abhängig. Nach B e c h t o l d (5) kann bei diesen Temperaturen noch kein Brät "verbrennen". Bei der erwähnten ständigen Konsistenzprüfung erkennt man das "Langwerden" des Brätes an einer starken, ziehenden Klebrigkeit. Bei Tageslicht betrachtet zeigt langes Brät einen starken, spiegelnden Glanz. "Kurzes" Brät läßt sich am leichtesten im Vergleich mit einem "langen" beurteilen. Man vermißt beim Hineingreifen die ziehende, an den Fingern "saugende" Klebrigkeit. Beim Auseinanderstreichen auf der Hand fehlt der starke, spiegelnde Glanz; es sieht stumpf aus. Auch ist es von zahllosen feinsten Poren durchsetzt, die der spiegelnd glatt verstreichbaren Masse des "langen" Brätes fehlen (5).

Über die Ursache des "Verbrennens" zitiert B e c h t o l d (5) die Ansicht des Konstrukteurs S e y d e l m a n n :

"Das Verbrennen des Brätes kann nur auf dem Schneidweg, also auf einem nur messerbreiten Querschnitt durch den umlaufenden Brätringwulst erfolgen. Während des außerordentlich raschen Zerschneidens erfahren die Fleischstückchen eine kurzdauernde Erwärmung von um 50 - 60 oder noch mehr Grade. Sicher werden dabei stoßartig während einer, vielleicht eintausendstel Sekunde dauernden Zeitspanne Temperaturen von etwa 60 - 70° C erreicht. Eine so hohe Temperatur bedeutet eine Überschreitung des Kreckpunktes der Eiweiße. Also müßte eigentlich eine Gerinnung der Fleischeiweiße und natürlich auch ein Schmelzen der Fette eintreten. Wenn das nicht geschieht, so deswegen, weil sich der Wärmestoß alsbald auf den beigegebenen Eisschnee, auf den nicht zerschnittenen Teil des Fleischstückchens und die benachbarten Fleischstücke verteilt. Auch wenn nicht sofort Eiskälte auf die erwärmte Schnittstelle wirkt, verliert sich die hohe Momentwärme durch

Wärmeleitung und Wärmestrahlung. Denn sonst müßte sich das "Verbrennen" der Eiweiße sehr schnell bemerkbar machen. Die Bräterwärmung tritt jedoch erst nach einer größeren, mehrere Minuten in Anspruch nehmenden Zahl von Kutterumläufen auf. Das "Kurzwerden" erfolgt also nur an Fleischquerschnitten, die wenige Millimeter breit sind. "Kurzwerden" ist nichts anderes als ein Gerinnen der Fleischeiweiße. Solange nicht Fleischteilchen durch den von den schneidenden Messern erzeugten Wärmestoß eine genügend hohe Erhitzung erfahren, gerinnen sie auch nicht."

B e c h t o l d (5) führt weiter aus:

"Mithin kann auch nicht die gesamte Brätmasse kurz werden. Kurz werden nur die vom Messer zerschnittenen Fleischteilchen oder noch genauer: die Schnittfläche dieser Fleischstückchen. Bei langdauerndem Umlaufen sind dies natürlich außerordentlich viele Querschnitte, und so kann bei mangelnder Kühlung schließlich die gesamte Brätmasse "kurz" geraten.... Die Fleischmassen sind offenbar gute Wärmeleiter und -strahler.... Geschädigt wird ein stark erwärmtes Brät, wenn es eine übergroße Zahl Fleischteilchen mit Querschnitten aufweist, die kurzdauernde Erwärmungsstöße erleiden mußten, welche Temperaturen erzeugten, die über den Kreckpunkt hinausgingen und weil sich die Erwärmungsstöße an den Querschnitten infolge der großen Umdrehungszahl der Messer an ein und demselben Fleischstückchen sehr oft wiederholen".

Nach H e n s e l (21) ist jedoch Körpergewebe ein verhältnismäßig schlechter Wärmeleiter. Auch geht im modernen Kutter die Zerkleinerung so weit, daß mikroskopisch nur noch vereinzelt Muskelzellen nachweisbar sind (13). Nach K o t t e r (23) kommt es sogar zur Zerschlagung von fadenförmigen Molekülen. Neue Erkenntnisse haben auch ergeben, daß der Kuttervorgang nicht allein im Schneiden des Fleisches besteht. S c h ö n b e r g und M i a l k i (39) haben sogar ein Verfahren zum Patent angemeldet, nach dem das Wurstbrät erheblich besser wird, wenn das feingeschnittene Fleisch im Kutter anstatt durch scharfe Messer einer Bearbeitung durch stumpfe Schlagwerkzeuge, d.h. durch flache Körper mit breiten Schlag- oder Reibflächen unterworfen wird. Nach K o t t e r (23) ist beim Kuttern zu beobachten, "daß nach dem Schütten kaum noch eine Zerkleinerung des Bindegewebes erfolgt. Die langen, dünnen isoliert vorliegenden Bindegewebsfäden werden beim Kuttern immer zahlreicher. Die bindegewebigen Hüllen der Muskelfasern und das interstitielle Bindegewebe werden durch die Reibung beim Kuttern weitgehend von anhängenden Muskelfibrillen be-

freit und das Sarkoplasma ganz allgemein aus dem Verband der "dichten Packung" gesprengt. Man kann sich den fortgeschrittenen Vorgang der Brätherstellung etwa so vorstellen, daß unter der reibenden und schlagenden Wirkung der Kuttermesser das Sarkoplasma gewissermaßen aus den angeschnittenen Sarkolemmschläuchen herausgeklopft wird, was allerdings bereits durch zugesetzte Salze und das Fremdwasser begünstigt wird."

Reibungsvorgänge sind also beim Kuttern einerseits absolut notwendig, andererseits bedingen sie aber auch eine gewisse Gefahr der Wärmedenaturierung. Zur Verhütung der übermäßigen Erwärmung sind zahlreiche Verbesserungen eingeführt worden, wie Kühlen des Fleisches und der Maschinenteile (Kutterschüssel und Messer), Schüttung statt mit Wasser mit Eisschnee oder Eisstückchen, sichelförmige Messer, die mit einem optimalen Schnittwinkel von 30 - 50 Grad im "ziehenden Schnitt" wirken (36) usw. Durch eine leichte Neigung der Messerflächen sollen diese ähnlich einem Propeller einen raschen Umlauf des Brätes bewirken und einen Stau vor den rotierenden Messern verhindern (5). K o t t e r (23) schlägt vor, unter Beibehaltung der Schärfe der Messer durch eine leichte Wellung den schlagenden Effekt zu erhöhen. Die Zerkleinerung auf chemischem Wege soll vikariierend größeren Raum einnehmen. K o t t e r (23) sieht die Unterstützung der mechanischen Zerkleinerung durch Salze insbesondere darin, daß das Fleisch vorgesalzen wird, um dem Kochsalz eine gewisse Zeit der Einwirkung zu bieten, damit das Muskeleiweiß schon präpariert ist. Noch vorteilhafter ist es, wenn Salze verwendet werden, die besonders aktiv auf die Zerkleinerung einwirken, wie dies K o t t e r und P r ä n d l (25) für kondensierte Phosphate feststellen konnten. Von besonderem Vorteil ist hierbei die gleichzeitige Viskositätserniedrigung, weil bei geringem Reibungswiderstand auch die Wärmeentwicklung und damit die Gefahr der Wärmedenaturierung geringer ist (23). Trotz aller technischer Verbesserungen gibt es keine Garantie, daß stets ein gleichmäßig gutes Brät entsteht. Würstchen mit einem "kurzen" Füllsel gehören auch heute durchaus nicht zu den Seltenheiten (16).

Warum die Erhaltung der Muskeleiweißkörper im nativen Zustand für die Herstellung gut bindender Würstchen so entscheidend wichtig ist, haben K o t t e r und P r ä n d l (24) wie folgt dargestellt:

"Bei Brühwurst muß das teils suspendierte, teils gelöste Muskeleiweiß eine zusammenhängende Hitzekoagulation erfahren, damit die als Schnittfestigkeit bezeichnete Bindung des Fertigfabrikates zustande kommt. Das

im rohen Brühwurstbrät als Suspension, Gellösung und Emulsion vorliegende Gemisch muß unter fester Gerüstbildung erstarren. Diese zusammenhängende Koagulation ist jedoch nur dann möglich, wenn soviel feinverteilte Muskeleiweißkörper vorliegen, daß sich ein Teil von ihnen auf Grund der hohen Grenzflächenaktivität an der Grenzfläche zum Fett anreichern und als Emulgator und Stabilisator die Fettverteilung begünstigen kann und ein weiterer Teil der peptisierten Eiweißkörper die Möglichkeit hat, zu den Eiweißfilmen um die Fettpartikelchen und zu den grobdispersen Fleischteilchen so enge Beziehungen aufzunehmen, daß bei der Hitzedenaturation ein festes Eiweißgerüst entsteht, das nicht nur die Fettpartikelchen, sondern auch feinste Kapillarräume so eng umschließt, daß diese das bei der Hitzeagulation freiwerdende Wasser aufnehmen können (24)."

Zerkleinerung in der Kolloidmühle.

Für eine sehr weitgehende Zerkleinerung dient die Kolloidmühle, die seit einigen Jahren mehr und mehr Verwendung findet. Unter Kolloidmühlen versteht man einen schnellaufenden Rotor in einem feststehenden Gehäuse. Beide Teile haben zahlreiche Unebenheiten, hieraus entstehen Wirbel und Schläge, Flüssigkeitsreibung an den Wandungen und andere Mahlgutbeanspruchungen. Es werden Schwingungsfrequenzen im Bereich von 5000 Hz ausgelöst (16). Durch Verstellen der Mahlpalten kann jeder gewünschte Zerkleinerungsgrad erreicht werden. Die Maschine arbeitet um so leichter und schneller, je flüssiger das Mahlgut gehalten wird. 40 % Wasser müssen mindestens vorhanden sein. Durch die Wasserzugabe muß ein freies Fließen für das fertige Produkt gewährleistet sein, da sonst infolge der starken Erwärmung während des Mahlvorganges das zu bearbeitende Gut in seiner Qualität nachteilig beeinflusst wird und Ursache später auftretender Fehlfabrikate werden kann (14). Die Mühle dient zur Herstellung eines feinen, glatten Wurstbrätes bei frischen Fleischwaren (Leberwurst, Leberkäse, Leberpastete usw.) und kann auch für andere Zerkleinerungsarbeiten verwendet werden. Die von früheren Geräten her bekannte, hochgradige Erwärmung des Mahlgutes ist durch eine neuartige Spezialverzahnung beseitigt worden (40), so daß neuerdings nicht nur Kochwurstmaterial, sondern auch das, gegen Temperatureinflüsse besonders empfindliche Brühwurstbrät durch dieses Gerät gegeben werden kann. Inwieweit auch hierbei noch eine Beeinträchtigung der Qualität eintritt, ist modellmäßig noch nicht geprüft.

III. Eigene Untersuchungen

A) Vorbetrachtung.

Durch Fehlfabrikate gehen alljährlich bei der Fleischverarbeitung bedeutende Werte verloren. Eine besondere Rolle spielen dabei die verschiedenen Zerkleinerungsvorgänge in den Maschinen. Qualitätsminderungen machen sich insbesondere bei ungeeigneten oder schon stark abgenutzten Maschinen und bei zu langer Ausdehnung des Zerkleinerungsvorganges bemerkbar. Wenn Metallteile in schneller Rotation (Kutter, Kolloidmühle) oder unter starkem Druck (Wolf) mit dem Fleisch in Berührung kommen, entsteht Reibungswärme. Oberhalb einer gewissen Temperatur werden die Muskeleiweißkörper denaturiert und verlieren neben anderen Eigenschaften auch ihre Löslichkeit. Die Löslichkeit aber ist für die Bindefähigkeit des Fleisches von ausschlaggebender Bedeutung (24).

N i k k i l ä und L i n k o (32) haben Denaturierungserscheinungen an den Muskeleiweißkörpern gefrorener und wieder aufgetauter Fische gemessen. Dazu extrahierten sie mit Salzlösungen die Proteine und stellten durch Stickstoffbestimmung nach K j e l d a h l deren Menge fest. Sie gingen also von der Annahme aus, daß der denaturierte Teil der Proteine nicht mehr löslich ist. Da das Inlöslichgehen der Proteine bei der Herstellung gut bindender Wurstwaren eine entscheidende Rolle spielt, wurde diese Methode auch angewandt. Andere Denaturierungsmeßmethoden beziehen sich hauptsächlich auf die Bestimmung freier SH- Gruppen, Viskositäts- und Strömungsdoppelbrechungsmessungen, doch sind diese für einen quantitativen Nachweis im Fleischbrei weniger geeignet.

B) Material und Methodik.

Bei allen Versuchen fand ausschließlich Rindermuskulatur Verwendung. Das Fleisch stammte von frischgeschlachteten Tieren; die Verarbeitung erfolgte aber nach verschiedenen Zeitabständen. Muskelstücke aus dem M. rectus abdominis oder dem M. gluteus wurden von Fascien, Sehnen und Fett weitgehend befreit und, um Wasserverluste und enzymatische Aktivitäten möglichst niedrig zu halten, tief gekühlt. Nachdem das Fleisch den verschiedenen Zerkleinerungsvorgängen unterworfen war, wurde es anschließend

bei den meisten Versuchen in Trockeneis eingefroren und auf dem Mikrotom in 40μ starke Scheiben geschnitten, um abschließend annähernd gleichen Zerkleinerungsgrad zu garantieren und weitere Denaturierungsvorgänge zu unterdrücken. Dann wurden von jeder Probe gleiche Mengen in Erlenmayerkolben eingewogen, mit verschiedenen Extraktionsmitteln versetzt und bei Kühlschranktemperatur extrahiert. Extraktionsmittelmengen und Extraktionszeiten, sowie Anzahl der Nachextraktionen waren nicht bei sämtlichen Versuchen gleich. Die Extraktion sollte immer möglichst erschöpfend sein, um auch feinere Unterschiede infolge Denaturierung bei der Extraktion erfassen zu können. Nach der Extraktion fand die Trennung der gelösten und ungelösten Teile in der Kühlzentrifuge bei 0°C und 10 100 g statt. Die Extrakte wurden quantitativ gewonnen und gewogen. Die Stickstoffbestimmung erfolgte nach K j e l d a h l von jeweils 10 g Extrakt. Der Gesamtstickstoff der Muskulatur wurde ebenfalls ermittelt. Zur Feststellung des Reststickstoffes wurden 10 g Extrakt mit der doppelten Menge Trichloressigsäure versetzt und das ausgefallene Eiweiß abzentrifugiert. In der überstehenden Flüssigkeit wurde der Stickstoff bestimmt.

C) Vorversuche.

In Vorversuchen war zu prüfen, welche Extraktionsmittel und welche Extraktionsmethode die besten Ergebnisse für die Bestimmung des denaturierten Eiweißanteils erwarten lassen.

Zur Extraktion fanden Lösungen von Kaliumjodid (0,6 m) und Kaliumpyrophosphat (0,1 m) sowie Weber'sche Lösung (0,6 m KCl + 0,04 m NaHCO_3 + 0,01 m Na_2CO_3) Verwendung. Die Extraktionslösung wurde in vier-, sieben- und zehnfacher Menge der Muskulatur zugesetzt. Die Extraktionsdauer erstreckte sich über verschiedene Zeiträume und zwar eine, zwei, fünf, fünfzehn und vierundzwanzig Stunden. Auch nach dem erschöpfenden Extraktionsverfahren von H a s s e l b a c h und S c h n e i d e r (18) wurde gearbeitet. Hierbei erfolgte die Extraktion während vierundzwanzig Stunden mit einer Lösung von 0,6 m KCl + 0,01 m NaHCO_3 im Verhältnis 1:10. Nachextraktionen im Verhältnis 1:4 fanden zweimal zwei und einmal achtzehn Stunden statt. In gleicher Weise wurde mit 0,47m KCl + 0,01m Pyrophosphatlösung unter Zusatz vom Phosphatpuffer (NaH_2PO_4) bei $\text{p}_\text{H}=8$ extrahiert.

Die höchste Ausbeute ergaben pyrophosphathaltige Extraktionsmittel in etwa

zehnfachen Menge bei längerer Extraktionsdauer und mehreren Nachextraktionen. Eine Übereinstimmung der einzelnen Versuchsreihen war manchmal nicht zu erkennen, was aber im unterschiedlichen Ausgangsmaterial begründet sein kann. Änderungen in der Methodik werden bei den einzelnen Versuchsreihen beschrieben. Es wurden dabei Erfahrungen berücksichtigt, die von H a s s e l b a c h und S c h n e i d e r (18) und von K l e m e n t (22) bei Extraktionsversuchen gemacht wurden.

D) Hauptversuche.

1. Vergleich der Extrahierbarkeit von Muskeleiweißkörpern vor und nach Zerkleinerung von Fleisch im Wolf.

1. Versuch:

Unbehandelte und gewolfte Muskulatur wurde in Trockeneis eingefroren und auf dem Mikrotom geschnitten. Dadurch soll ein strukturbedingter Einfluß auf die Extraktion infolge Zerkleinerung ausgeschaltet werden, ohne daß das Eiweiß geschädigt wird. Nach dem Abwiegen von 5 Gramm Muskulatur und Zusatz der vierfachen Menge Extraktionslösung (0,6m KCl, $p_H=6,5$) erfolgte die erste Extraktion, die nach 20 Minuten durch Trennung der gelösten und ungelösten Teile in der Zentrifuge eine Unterbrechung erfuhr. Nun wurde das Sediment in der vierfachen Extraktionslösung (0,6m KCl + 0,04m NaHCO_3 + 0,01m Na_2CO_3 , $p_H=7,5$) erneut aufgeschwemmt und 24 Stunden extrahiert. Weitere Nachextraktionen mit demselben Material erstreckten sich zweimal über vier und einmal über achtzehn Stunden.

Ergebnisse:

Die bei drei Extraktionen von der gleichen Muskulatur erhaltenen Mengen Proteinstickstoff sind aus Tabelle 1 zu ersehen.

Lfd.Nr.	% Proteinstickstoff im Extrakt	
	von unbehandeltem Fleisch	von gewolfte Fleisch
1.	38,32	34,62
2.	41,54	35,68
3.	45,32	39,74

Tabelle 1: Extrahierter Proteinstickstoff in % des Gesamtmuskel-
eiweiß-N von gewolfte und ungewolfte Muskulatur nach er-
schöpfender Extraktion mit pyrophosphatfreien Lösungen.

2. Versuch:

Es wurde unter Zusatz von Kaliumpyrophosphat extrahiert. Die Versuchs-
anordnung wie unter 1. beschrieben, wurde in folgenden Punkten abgeän-
dert:

Extraktionslösung: 0,47m KCl + 0,01m $K_4P_2O_7$ + Phosphatpuffer (NaH_2PO_4)
 $p_H = 8$.

Reihenfolge der Extraktionszeiten und Mengenverhältnisse für jede einzel-
ne Probe:

1. 24 Stunden, Fleisch: E.Lösung = 1:8
2. 2 Stunden, Sediment: " = 1:4
3. 2 Stunden, Sediment: " = 1:4
4. 18 Stunden, Sediment: " = 1:4

Von der Muskulatur zweier Rinder wurden je 3 Extraktionen durchgeführt.

Ergebnisse:

Siehe Tabelle 2.

% Proteinstickstoff
im Extrakt

		von unbehandeltem Lfd. Nr. Fleisch	von gewolfte Fleisch
I. Versuch	1.	63,99	64,66
	2.	71,16	66,03
	3.	73,04	71,43
II. Versuch	1.	65,95	60,28
	2.	66,06	61,24
	3.	73,34	63,64

Tabelle 2: Extrahierter Proteinstickstoff in % des Gesamtmuskeleiweiß-N
von gewolfte und ungewolfte Muskulatur nach erschöpfender
Extraktion mit pyrophosphathaltiger Lösung.

2. Vergleich der Extrahierbarkeit von Fleischeiweißkörpern vor und nach
Zerkleinerung im Wolf und der Kolloidmühle.

Zur Zerkleinerung in der Kolloidmühle wurden 250 g des gewolfte Fleisches
mit 125 g 0,15m NaCl-Lösung versetzt.

Die Versuchsanordnung, wie bei 1. beschrieben, wurde in folgenden Punkten
abgeändert:

Die Fleischeinwaage wurde auf 10 g erhöht, um eine größere Genauigkeit der
Extraktionswerte zu erzielen.

Extraktionslösung: $0,47m \text{ KCl} + 0,01m \text{ K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ + Phosphatpuffer
(NaH_2PO_4) $p_{\text{H}} = 8$.

Reihenfolge der Extraktionszeiten und Mengenverhältnisse:

1. 24 Stunden, Fleisch: E.Lösung = 1:10
2. 18 Stunden, Sediment: " = 1:4
3. 2 Stunden, Sediment: " = 1:4

Ergebnisse:

Aus der Muskulatur von vier Rindern wurden die in Tabelle 3 angeführten Mengen an Proteinstickstoff extrahiert.

	Lfd.Nr.	% Proteinstickstoff im Extrakt		
		von unbehandeltem Fleisch	von gewolftem Fleisch	von "kolloidgemahlenem" Fleisch
I. Versuch		63,70	51,84	63,81
II. Versuch	1.	66,62	57,53	72,58
	2.	69,33	62,13	73,14
III. Versuch	1.	37,42	48,61	53,48
	2.	45,85	50,20	60,64
IV. Versuch	1.	62,22	62,01	70,00
	2.	64,52	64,96	71,09

Tabelle 3: Extrahierter Proteinstickstoff in % des Gesamtmuskeleiweiß-N von unbehandelter, gewolfter und "kolloidgemahlener" Muskulatur nach erschöpfender Extraktion mit pyrophosphathaltiger Lösung.

3. Einfluß von Temperatur und Zerkleinerung auf die Extrahierbarkeit von Fleischbrei.

Um die Beziehung zwischen der qualitativen Fleischveränderung durch die Zerkleinerungswärme und der damit zusammenhängenden Extrahierbarkeit des Fleischeiweißes zu ergründen, wurde in weiteren Versuchen der Einfluß von Temperatur und Zerkleinerungsgrad geprüft. Als Zerkleinerungsmaschine, deren Arbeitsweise dem Kutter weitgehend ähnlich ist, diente der Starmix. In ihm können kleine Mengen verarbeitet werden, wie sie zu quantitativen Messungen zweckmäßig sind. Durch Änderung der Messertourenzahl (drei

Schaltstufen) und der Zerkleinerungszeit kann jeder gewünschte Zerkleinerungsgrad erreicht werden. Da in der Praxis sowohl schlachtwarmes als auch gelagertes Fleisch zur Verarbeitung kommt, fand hier beides Verwendung. Der Zeitpunkt der Schlachtung lag beim Ansetzen der Extraktionen aber immer schon mehrere Stunden zurück. Während dieser Zeit wurde das Fleisch im Kühlschrank bei ca. 4°C aufbewahrt. Das Ansetzen der zweiten Extraktionsreihe vom gleichen Fleisch erfolgte stets genau 24 Stunden später. Das hierzu verwendete Fleisch wurde schon tags zuvor mit dem anderen gewolft, abgewogen und dann kühl gelagert. Um zu prüfen, ob Pyrophosphat eine gewisse renaturierende Eigenschaft besitzt, kamen neben pyrophosphatfreien auch pyrophosphathaltige Kochsalzlösungen für die Extraktionen zur Verwendung. Die nachträgliche einheitliche Zerkleinerung auf dem Gefrieremikrotom mußte bei diesen Versuchen aus arbeitstechnischen Gründen unterbleiben, zumal die Zerkleinerung mit dem Mikrotom praktisch nicht an die mit Starmix und Kolloidmühle erzielbaren Zerkleinerungsgrade herankommt. Bei der Auswertung der Versuche ist also zu beachten, daß ein negatives Ergebnis zwar eine Denaturierung ausschließen läßt, daß aber im positiven Fall die Unterschiede auch strukturbedingt sein können.

a) Der Einfluß verschiedener Zerkleinerungsgrade auf die Extrahierbarkeit von Fleischbrei.

Gewolfte Fleisch wurde in Portionen zu 250 g eingeteilt und nach Zusatz der gleichen Menge 0,16m NaCl Lösung in der Kolloidmühle oder im Starmix zerkleinert. Die Verarbeitung im Starmix erfolgte bei verschiedenen Schaltstufen und Zeiten und zwar bei Schaltstufe I eine Minute (a), bei Schaltstufe II eine Minute (b) und bei Schaltstufe III drei Minuten (c). Je 40 g des gewonnenen Fleischbreies kamen zur Extraktion. Es wurde schlachtwarmes und 24 Stunden gelagertes Fleisch verwendet.

Extraktionslösungen: 1. 0,6m NaCl
2. 0,5m NaCl + $0,01\text{m Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, $p_{\text{H}}=8,2$.

Extraktionszeiten und Mengenverhältnisse:

- | | | |
|----|-----------------------|-------------------|
| 1. | 24 Stunden, Fleisch | : E.Lösung = 1:10 |
| 2. | 18 Stunden, Sediment: | " = 1:4 |

Ergebnisse: Siehe Tabelle 4.

		Kolloid-	Starmix	Starmix	Starmix
	gewolft	mühle	(a)	(b)	(c)
NaCl					
schlachtw.	33,81 %	35,91 %	39,32 %	37,72 %	29,54 %
NaCl					
gelagert	28,28 %	35,11 %	30,62 %	36,86 %	28,85 %
NaCl +					
Pyroph.					
schlachtw.	53,37 %	67,50 %	55,17 %	56,91 %	59,20 %
NaCl +					
Pyroph.					
gelagert	57,63 %	60,56 %	59,97 %	62,90 %	65,99 %

Tabelle 4: Extrahierter Proteinstickstoff in % des Gesamtmuskeleiweiß-N von schlachtwarmer und 24 Stunden gelagerter Muskulatur nach verschiedener Zerkleinerung. Extraktion mit pyrophosphathaltiger und reiner Kochsalzlösung.

b) Einfluß einer Zerkleinerungswärme von 20, 30 und 40° C auf die Extrahierbarkeit von Fleischbrei.

Schlachtwarmes und gelagertes Fleisch wurde nach Zusatz der gleichen Menge 0,16m NaCl-Lösung im Starmix bei Schaltstufe III solange zerkleinert, bis im Fleischbrei Temperaturen von 20, 30 oder 40° C erreicht waren. Für die Erwärmung auf 20° C waren zweieinhalb, auf 30° vier und auf 40° C sieben Minuten Zerkleinerungszeit benötigt. Extraktion und Stickstoffbestimmung erfolgte wie im vorhergehenden Versuch.

Ergebnisse:

Die extrahierten Proteinstickstoffmengen sind aus Tabelle 5 zu ersehen.

	Wolf	20°	30°	40°
NaCl				
schlachtw.		36,57 %	30,05 %	28,21 %
NaCl				
gelagert		50,37 %	44,93 %	38,11 %
NaCl +				
Pyroph.				
schlachtw.	63,28 %	65,53 %	67,90 %	57,37 %
NaCl +				
Pyroph.				
gelagert	61,77 %	66,40 %	64,67 %	65,12 %

Tabelle 5: Extrahierter Proteinstickstoff in % des Gesamtmuskeleiweiß-N von schlachtwarmem und gelagertem Fleisch, das durch Zerkleinern im Starmix auf Temperaturen von 20, 30 und 40° C erwärmt wurde. Extraktion mit pyrophosphathaltiger und reiner Kochsalzlösung.

c) Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Extrahierbarkeit von Muskeleiweiß aus Fleischbrei.

Es sollte nachgeprüft werden, bei welchen Temperaturen ein deutliches Abfallen der Extraktionswerte von einheitlich zerkleinertem Fleischbrei zu verzeichnen ist.

1. Versuch:

Es wurde ein nach Zusatz der gleichen Menge 0,16m NaCl-Lösung einheitlich zerkleinerter Fleischbrei (Starmix, Schaltstufe III zwei Minuten) in gleichen Portionen (40 g) abgewogen und in Wasserbäder 30 Minuten bei Temperaturen von 20, 30, 40 und 50° C gehalten. Es kam wieder schlachtwarmes und gelagertes Fleisch zur Verwendung. Extraktion und Stickstoffbestimmung fanden anschließend wie in den letzten Versuchen statt.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 6.

	NaCl schlachtw.	NaCl gelagert	NaCl + Pyroph. schlachtw.	NaCl + Pyroph. gelagert
Wolf	22,10 %	28,77 %		
0° C	24,15 %	28,44 %	45,91 %	58,87 %
20°	27,79 %	26,74 %	54,24 %	60,92 %
30°	24,11 %	24,16 %	56,57 %	60,20 %
40°	21,97 %	15,32 %	53,02 %	29,22 %
50°	15,42 %	12,27 %	22,45 %	7,44 %

Tabelle 6: Extrahierter Proteinstickstoff in % des Gesamtmuskeleiweiß-N von schlachtwarmem und 24 Stunden gelagertem Fleisch, das auf verschiedene Temperaturen erwärmt wurde. Extraktion mit pyrophosphathaltiger und reiner Kochsalzlösung.

2. Versuch:

Bei gleicher Versuchsanordnung wie beim 1. Versuch wurde auf 30, 35, 40, 45, 50 und 55° C erwärmt, um die obigen Versuchsergebnisse zu kontrollieren und das Absinken der Extraktionsausbeute genauer auf die einzelnen Temperaturbereiche zu lokalisieren.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 7.

	NaCl schlachtw.	NaCl gelagert	NaCl + Pyroph. schlachtw.	NaCl + Pyroph. gelagert
0° C	26,71 %	30,02 %	51,68 %	56,38 %
30°	26,55 %	30,34 %	58,21 %	54,52 %
35°	25,32 %	29,67 %	56,47 %	54,18 %
40°	24,79 %	18,83 %	55,28 %	36,14 %
45°	18,08 %	15,09 %	47,84 %	25,42 %
50°	16,18 %	8,14 %	18,08 %	8,01 %
55°	11,17 %	7,55 %	17,80 %	4,51 %

Tabelle 7: Siehe Anmerkung zur Tabelle 6.

d) Einfluß der Temperatur von 30° C in einem Zeitraum von 30 bis 90 Minuten.

Es sollte geprüft werden, ob die Dauer der Temperatureinwirkung auf die Extrahierbarkeit von Muskeleiweiß Einfluß nimmt. Dazu wurden 250 g schlachtwarmes Fleisch mit der gleichen Menge 0,16m NaCl-Lösung versetzt, im Star-mix bei Schaltstufe III zwei Minuten zerkleinert, in gleiche Portionen (40 g) abgewogen und in einem Wasserbad 30, 45, 60 und 90 Minuten bei 30° C gehalten. Hierauf erfolgte Extraktion und Stickstoffbestimmung wie bei den früheren Versuchen.

Ergebnisse:

Siehe Tabelle 8.

	30 Minuten	45 Minuten	60 Minuten	90 Minuten
NaCl	37,75 %	36,01 %	33,50 %	33,69 %
NaCl + Pyroph.	62,41 %	63,18 %	59,55 %	54,24 %

Tabelle 8: Extrahierter Proteinstickstoff in % des Gesamteiweiß-N von schlachtwarmem Fleisch, das 30, 45, 60 und 90 Minuten bei einer Temperatur von 30° C gehalten wurde.

IV. Diskussion

Bei der starken Zerkleinerung des Fleisches, wie sie mit den modernen Zerkleinerungsmaschinen möglich ist, besteht der Verdacht, daß auch in vermehrtem Maße eine Hitzedenaturierung des Muskeleiweißes auftritt. Da denaturiertes Eiweiß sich im allgemeinen nicht in Salzlösungen löst und somit für die bei der Brühwurstfabrikation nötige Bindung nicht verfügbar ist, könnten die modernen Fleischzerkleinerungsmaschinen einerseits auch eine gewisse Labilisierung des Fabrikationsganges verursachen.

In vorliegender Arbeit sollte untersucht werden, ob unter labormäßigen Bedingungen bei der Fleischzerkleinerung eine in Extraktionsversuchen nachweisbare Denaturierung der Muskeleiweißkörper auftritt. Die verwendeten Maschinen waren ohne technische Mängel. Im Einzelversuch wurden jeweils nur kleine Fleischmengen verarbeitet, so daß eine nennenswerte Erwärmung der Maschinenteile, mit der in der Praxis zusätzlich gerechnet werden muß, nicht stattfand. Außerdem wurden Sehnen und Bindegewebssteile, die der Zerkleinerung einen erheblichen Widerstand entgegensetzen und so die Erwärmung begünstigt hätten, vorher entfernt. Nach dem Zerkleinern des Materials erfolgten alle weiteren Bearbeitungen bei $0 - 5^{\circ} \text{C}$.

Die Extraktionsausbeuten vom Fleisch verschiedener Tiere sind sehr unterschiedlich, aber auch die Erträge vom gleichen Ausgangsmaterial zeigen zum Teil große Unterschiede, was vor allem durch nicht vermeidbare Ungenauigkeiten bei der Ausführung der Versuche verursacht wurde. Die nach Zerkleinerung im Wolf erzielten Ergebnisse lassen bei den meisten Versuchen einen Abfall der extrahierten Proteinstickstoffmengen erkennen (Tabelle 1, 2, 3). Dieser Befund bedarf allerdings noch der statistischen Sicherung in einer großen Versuchsreihe. Durch Zerkleinerung in der Kolloidmühle war dagegen eine Steigerung der Extraktionsausbeute zu erzielen. Davon kann aber nicht ohne weiteres abgeleitet werden, daß keine Denaturierung auftritt, da eine gewisse Denaturierung von einer Erhöhung der Extrahierbarkeit infolge stärkerer Zerkleinerung überdeckt sein kann. Es ist auch nicht auszuschließen, daß durch die lange und erschöpfende Extraktion teilweise denaturierte Eiweißkörper noch löslich sind oder eine Renaturierung stattfindet, wie sie bei anderen Proteinen beobachtet wurde (10, 15, 19, 31, 44). Nach Edsall und Mehl (9) kann Myosin auch dann noch löslich sein, wenn sich in Viskositäts- und Strömungsdoppelbrechungsmessungen schon eine Denaturierung anzeigt.

Die Extraktionsausbeuten mit pyrophosphathaltigen Extraktionsmitteln war durchwegs erheblich höher als die mit NaCl-Lösungen, selbst bei intensivster Zerkleinerung und trotz der langen Extraktionsdauer (Tabelle 4 und 5). Diese spezifisch extraktionsfördernde Wirkung des Pyrophosphats wurde zuerst von A m b e r s o n und Mitarbeitern (1) beschrieben. Mit steigendem Zerkleinerungsgrad fällt die Extraktionsausbeute mit NaCl und steigt die mit Pyrophosphat (Tabelle 4). Wird solange zerkleinert, bis der Fleischbrei eine bestimmte Temperatur erreicht hat, so ist mit NaCl mit steigender Temperatur ebenfalls eine Verminderung des extrahierbaren Stickstoffs festzustellen. Dagegen läßt sich an den Ergebnissen mit Pyrophosphat keine eindeutige temperaturabhängige Tendenz feststellen.

Die Zeitdauer einer Temperatureinwirkung von 30°C auf den Fleischbrei bis zu 90 Minuten beeinflußt sowohl in Gegenwart von Pyrophosphat als auch bei alleiniger Kochsalzanwesenheit die Extraktion nicht (Tabelle 8). Über 35°C beginnt ein deutliches Absinken der Extraktionsausbeute bei gelagertem Fleisch, während bei schlachtwarmem Fleisch erst bei $40 - 45^{\circ}\text{C}$ eine Verringerung der Extrahierbarkeit zu beobachten ist (Tabelle 7). Die Stickstoffausbeute mit pyrophosphathaltiger Extraktionslösung sinkt dabei sehr rasch auf ganz geringe Werte ab. Eine renaturisierende Eigenschaft kommt also dem Pyrophosphat demnach nicht zu. Die Ergebnisse stimmen mit den Angaben überein, daß Myosin bei Temperaturen zwischen 38 und 45°C koaguliert (4, 9, 43). Der noch verbleibende Rest entfällt auf die hitzeresistenten, wasserlöslichen Muskeleiweißkörper (4).

Bemerkenswert ist die Erscheinung, daß die Extraktionsausbeute aus schlachtwarmem Fleisch erst bei höheren Temperaturen abnimmt als die aus gelagertem Fleisch (Tabelle 6 und 7). Diese Resistenz des schlachtwarmen Fleisches gegen Hitzedenaturierung läßt sich auf Grund einer Beobachtung E n g e l h a r d t ' s und L j u b i m o w a ' s (12) auf die anwesende ATP zurückführen, die eine gewisse Stabilisierung des Myosins bewirkt. Ob ATP in dieser Wirksamkeit durch Pyrophosphat ersetzt werden kann, müßte allerdings in künftigen Untersuchungen geprüft werden.

Auf die Verhältnisse der handwerklichen Fleischverarbeitung erlauben die hier angeführten Ergebnisse keinen Rückschluß. In der Praxis werden die Maschinen durch große Fleischmengen stark beansprucht und sehr widerstandsfähige Sehnen und Schwarten mit verarbeitet. Daher können, beson-

ders bei körperwarmem Fleisch trotz Eiswasserschüttung Temperaturen um 40°C in Feinstzerkleinerungsmaschinen erreicht werden, die zu einer Denaturierung der Eiweißkörper und damit zu einer mangelhaften Bindung der Wurstmasse führen.

Für die Lösung der Frage, ob bei Fleischzerkleinerungsmaschinen signifikante, den Produktionsgang störende Eiweißdenaturationen auftreten, sind insbesondere Versuche bei gewerblicher Belastung der Maschinen nötig, da erst nach einer gewissen Betriebsdauer eine Wärmestauung in den Maschinenteilen eintritt, die eine Erhitzung des Fleischbreis auf die kritische Denaturierungstemperatur des Aktomyosins verursachen könnte.

V. Zusammenfassung

1. Die Literatur über die Denaturierung von Proteinen und Muskeleiweißkörpern wurde besprochen.
2. An Fleisch, das mit dem Wolf zerkleinert war, konnten Denaturierungsveränderungen durch Extraktion der Muskeleiweißkörper nur geringfügig nachgewiesen werden.
3. Eine deutliche Beeinflussung der Extrahierbarkeit ist erst bei Temperaturen von 40 - 45 ° C festzustellen. Denaturierungsveränderungen werden bei intensiver Zerkleinerung möglicherweise durch höhere Extraktionsausbeute überdeckt, was aus Versuchen an "kolloidgemahlenem" und im Starmix zerkleinertem Fleisch hervorgeht. Die extrahierten Eiweißmengen sind abhängig von der verwendeten Extraktionslösung und vom Zeitpunkt nach der Schlachtung.

VI. Literaturverzeichnis

=====

1. Amberson, M.R., B. Chinn,
T. Erdös u.H. Ludes: Electrophoretic and Ultracentrifugal
Analyses of Protein Extracts from
whole Mammalian Muscles.
J. Biol. Chem., 181 (1949), 405;
2. Ardry, R. u. G. Elie: Les Protéines Plasmatiche Traitées
par le Formaldehyde et la Chaleur.
Nouvelles Considérations sur le
Mécanism de Dénaturation.
Bull. Soc. Chim. Biol. 38 (1956), 129;
3. Astbury, W.T.: Röntgenoskopie von Proteinfasern.
Kolloid-Z. 69 (1934), 340;
4. Bate-Smith, E.C.: Native und Denatured Muscle Proteins.
Proc. Roy. Soc. B 64 (1937), 136;
5. Bechtold, E.: Der praktische Fleischer, Band II.
Hugo Matthaes Verl. Stuttgart 1953;
6. Claesson, J.M.: Effect of Ultraviolet Light on
Certain Proteins.
Arkiv for Kemi 10 (1956), 1;
7. Colvin, J.R.: Thermal Denaturation of Proteins as
an Order-Disorder Transition in a
High Polymer.
Arch. Biochem. 46 (1953), 385;
8. Cumper, C.W.N. and
A.E. Alexander: The Surface Chemistry of Proteins.
Transact. Faraday Soc. 46 (1950), 235;
9. Edsall, J.T. and J.W. Mehl: The Effect of Denaturing Agents
on Myosin. II. Viscosity and Double
Refraction of Flow.
J. Biol. Chem. 133 (1940), 409;
10. Emmert, E.W. and
J.B. Longley: Reactivation of Heat Inactivated
Hyaluronidase.
J. gen. Physiol. 37 (1953), 361;

22. Klement, H.: Über die Extrahierbarkeit von Muskeleiweißkörpern aus Kaninchenmuskeln mit Lösungen verschiedener Salze.
Vet. Diss. München 1956;
23. Kotter, L.: Zur Wirkung kondensierter Phosphate und anderer Salze auf tierisches Eiweiß.
Habilitationsschrift 1957;
24. Kotter, L., und O. Prändl: Chemisch-physikalische Vorgänge bei der Brühwurstfabrikation.
Arch. f. Lebensmittelhyg. 7 (1956), 219;
25. Kotter, L., und O. Prändl: Einfluß der Fleischzerkleinerung auf die Zustandsänderung der fibrillären Muskeleiweißkörper.
Fleischw. 8 (1956), 688;
26. Kratky, O., A. Sekora, und J. Pilz: Die Bestätigung der Pauling-Corey'schen Helixvorstellung aus Röntgen-Kleinwinkelmessungen am nativen Seidenfibroingel.
Zschr. f. Naturforsch. 96 (1954), 803;
27. Lenz, W.: Zur Methodik der papierelektrophoretischen Auftrennung von Muskeleiweißkörpern.
Vet. Diss. München 1954;
28. Mialki, W.: Zum Kutterproblem.
Fleischwirtschaft 11 (1955), 655;
29. Mizushima, S.J.: Structure of Substances Related to Proteins.
Adv. Prot. Chem. 9 (1954), 299;
30. Monder, E., and P.E. Ramstad: The Effect of Ball-Milling upon Certain Properties of Proteins.
Arch. Biochem. 46 (1953), 376;
31. Neurath, E.H., J.P. Greenstein, F.W. Putnam, and O.J. Ericksson: Chem. Reviews 34 (1944), 158;
32. Nikkilä, O.E. and R.R. Linke: Denaturation of Myosin During Defrosting of Frozen Fish. Food Research 19 (1954), 200;
33. Pauling, L.: General Chemistry. Verlag Freeman and Company, San Francisco 1954;

34. Pauling, L., and R. Corey: Compound Helical Configurations of Polypeptid Chains; Structure of Proteins of the Keratin Type.
Nature 171 (1953), 59;
35. Pauling, L., and R. Corey: Die Struktur der Proteinmoleküle.
Naturwissenschaftliche Rundschau 8 (1955), 254;
36. Pilz, P.: Der Schneidvorgang in der Zerkleinerungstechnik von Weichstoffen.
Chem.-Ing.-Technik 25 (1953), 33;
37. Rózsa, G. u. M. Staudinger: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Muskelproteinen.
Makromolek. Chem. 2 (1948), 66;
38. Schellmann, J.A.: The Stability of Hydrogen-Bonded Peptide Structures in Aqueous Solution.
Carlsberg Sér. Chim. 29 (1953), 230;
39. Schönberg, F., und W. Mialki: Werkzeug zur Herstellung von Wurstbrät.
Patent v. 16.10.51 Nr. 900 306
42.66 b;
40. Schwerdt, H.: Die Vibrationskolloidmühle in der Fleischwarenfabrikation.
Fleischwirtschaft 3 (1952), 180;
41. Stauff, J.: Denaturierung der Proteins.
Grenzflächenprobleme und Reaktionen im kolloidalen Zustand.
Sonderausgabe der Kolloid-Z. 146 (1956);
42. Steiner, R.F., K. Laki and S. Spicer: Light Scattering Studies an Some Muscle Proteins.
J. Polym. Science 8 (1952), 31;
43. Szent-Györgyi, A.: Chemistry of Muscular Contraction.
Academic Press Inc., Publishers
New York 1951;

44. Tongur, W.S.: Einige Fragen der Umkehrbarkeit der Eiweißdenaturierung.
Zur Biochemie des Eiweißes.
Sammlung sowjetischer Arbeiten.
VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften
Berlin 1956, S. 38;
45. Tsiperovich, A.S.: On the Mechanism of Protein Denaturation.
Denaturative Stabilization of Globular Proteins.
Biochimija 21 (1956), 203;
46. Waldschmitt-Leitz, E.: Chemie der Eiweißkörper. Sammlung chemischer und chemisch-technischer Vorträge Nr. 49
Verlag Enke Stuttgart 1950;
47. Waugh, D.F.: Protein-Protein Interactions.
Adv. Prot. Chem. 9 (1954), 325;
48. Wu, H.: The Denaturation of Proteins.
Chin. J. Physiol. 5 (1931), 321;
49. Zittle, C.A., and E.S. Della-Monica: The Viscosity and Opacity of Heated Lactoglobulin Solutions: The Effect of Salt and Oxydizing and Reducing Reagents.
J. Am. Chem. Society 79 (1957), 126.

Am Schluß dieser Arbeit erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. H. S e d l m e i e r meinen ergebensten Dank für die Überlassung des Themas und des Arbeitsplatzes auszusprechen.

Herrn Priv.-Doz. Dr. L. K o t t e r und Herrn Dr. O. P r ä n d l danke ich herzlich für ihre vielen Anregungen und ihre jederzeit gern gewährte Unterstützung.

Lebenslauf

Als Sohn des Studienrates Gustav Strobl und seiner Frau Kunigunde, geb. Rösl, wurde ich, Adolf Strobl, am 24. 9. 1931 in St. Wendel (Saar) geboren. Von 1937 - 39 besuchte ich die dortige Volksschule, von 1939 - 41 die Volksschule in Amberg und anschließend bis zur Reifeprüfung 1949 das humanistische Gymnasium in Amberg. Wegen der Ungunst der Verhältnisse war ein Beginn des tierärztlichen Studiums in München nicht möglich, deshalb hörte ich zunächst an der phil.-theol. Hochschule in Regensburg zwei Semester naturwissenschaftliche Fächer. Vom WS 1951/52 bis zum SS 53 studierte ich an der tierärztlichen Fakultät der Justus-Liebig-Hochschule in Gießen, im WS 1953/54 und SS 54 war ich Austauschstudent an der Freien Universität in West-Berlin. Nach drei weiteren Semestern an der tierärztlichen Fakultät der Universität München legte ich 1956 die tierärztliche Prüfung ab.

Bis Juli 1957 war ich mit dem Anfertigen dieser Arbeit am Institut für Nahrungsmittelkunde beschäftigt.

